Die Glykoside der Blätter von *Isoplexis isabelliana* (WEBB) MASF.

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HELLMUT FREITAG
aus Deutschland

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG.
1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546022_0077

Die Glykoside der Blätter von *Isoplexis isabelliana* (WEBB) MASF.

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HELLMUT FREITAG
aus Deutschland

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG.
1967

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. K. MEYER und Dr. CH. TAMM.

Basel, den 28. Februar 1967

Prof. Dr. H. HUBER
Dekan

Herrn HELLMUT FREITAG wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 28. Februar 1967 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 28. Februar 1967 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

«*Die Glykoside der Blätter von Isoplexis* (*Digitalis*) *isabelliana* (WEBB) MASF.»

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Pharmazeutischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen 50,
Fasciculus quintus, 1967

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. KUNO MEYER,

möchte ich auch an dieser Stelle für das rege Interesse, welches er dieser Arbeit entgegenbrachte, und für die vielen wertvollen Anregungen meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Herrn PD Dr. HORST H. A. LINDE *danke ich für viele Ratschläge und seine Hilfe bei der Diskussion der Ergebnisse.*

Fräulein SIGRID SPENGEL *danke ich für ihre geduldige und sehr sorgfältige experimentelle Mithilfe.*

Die Glykoside der Blätter von *Isoplexis isabelliana* (WEBB) MASF.[1])

Isoplexis isabelliana (WEBB) MASF. (Kurzbezeichnung *I. isabelliana*), die nur auf der Insel Gran Canaria vorkommende Art des Kanarischen Fingerhuts, ist erstmals von BRETÓN & GONZÁLEZ [4] chemisch untersucht worden. Diese Autoren hatten im Blattextrakt nach saurer Hydrolyse papierchromatographisch Digitoxigenin (**27**), Uzarigenin (**5**), Xysmalogenin (**9**) und β-Anhydro-uzarigenin (**7**) nachweisen und als einzige kristallisierte Produkte das zuletzt genannte Butenolid sowie das Disaccharid Digilanidobiose (**29**) erhalten können. REES *et al.* [1] isolierten nach Fermentierung des Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extraktes, der die Hauptmenge der herzaktiven Stoffe enthält, 7 krist. Cardenolidglykoside: Uzarigenin-2-desoxosid (= *Monosid a*) **15**, Digitoxigenin-digitoxosid (Evatromonosid) (= *Monosid b*) **25**, Uzarigenin-digitoxosid (= *Monosid c*) **34**, Digitoxigenin-glucomethylosid (= *Monosid e*) **46**, Digitoxigenin-allomethylosid (= *Monosid f*), Digitoxigenin-gulomethylosid (= *Monosid g*), *Monosid h* (unbekanntes 2-Desoxosid). Versuche, die diesen Monosiden entsprechenden genuinen Glucosido-Verbindungen zu isolieren, schlugen fehl.

In der vorliegenden Arbeit wird die Auftrennung der genuinen Glykoside des Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extraktes[3]) beschrieben.

1. Isolierung der genuinen Glykoside. – Durch präparative Dünnschichtchromatographie (DC) an Kieselgel (SiO_2) und durch Säulenchromatographie an mit Wasser imprägniertem SiO_2 [5] liess sich aus dem früher beschriebenen Rohkristallisat AK I [1] (das nach Dünnschichtchromatogramm (DC) praktisch nur 2 Glykoside enthält) eine als Glykosid «A» bezeichnete, im gewöhnlichen DC einheitlich erscheinende krist. Substanz gewinnen. Aus den Mutterlaugen des AK I konnten durch Verteilung an wasserhaltigen SiO_2-Säulen die folgenden KEDDE[6]-positiven krist. Substanzen (Reihenfolge gemäss steigender Polarität) isoliert werden: J, «G» (= G + K[3a])), B, «C» (= $C_1 + C_2$), E, D und M.

2. Isolierung der Monoside und Aglykone. – Einige der den Primärglykosiden zugrundeliegenden Monoside wurden aus dem AK I und aus dessen Mutterlaugen nach vorangegangener Fermentierung durch chromatographische Auftrennung gewonnen, wobei noch Monoside und Aglykone erhalten wurden, deren zuckerreichere bzw. zuckerhaltige Verbindungen bei der Aufteilung der Gemische der Primärglykoside

---

[1]) Für diese Art des Kanarischen Fingerhuts ist früher [1] [2] die Bezeichnung *Digitalis canariensis* L., *var. isabelliana* (WEBB) LINDINGER verwendet worden. Die hier benützte Nomenklatur ist der Arbeit von WERNER [3] entnommen worden.

[2]) 2. Mitteilung: [2].

[3]) Eine grössere Menge dieses Extraktes war uns in freundlicher Weise von der Firma F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, zur Verfügung gestellt worden, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken möchten.

[3a]) Nicht identisch mit dem früher [2] als «Substanz K» bezeichneten Produkt.

nicht gefasst werden konnten. Es waren dies die Monoside k und l, sowie die KEDDE negativen Substanzen «HF1», «HF2» [= HF2a + HF2b], HF3, HF4 sowie HF5.

3. Charakterisierung und chemische Untersuchung der genuinen Glykoside[4]. – – **3.1.** *Glykosid «A»* (*1*) mit Smp. 300–302° bzw. 294–304° zeigte $[\alpha]_D^{23} = -51{,}3°$ (Pyridin). Die Xanthydrol-Reaktion [7] war positiv. Im normalen DC wurde nur ein einziger Fleck erhalten, im $AgNO_3$-DC[5]) ausserdem noch ein sehr schwacher Fleck einer etwas polareren Substanz. Die Acetylverbindung **2** schmolz bei 214–220° und zeigte $[\alpha]_D^{23} = -24{,}6°$ (Methanol). Das nach enzymatischer Abspaltung[6]) von *Glucose* aus dem Glykosid «A» gewonnene *Monosid «a»* (**15**) (Smp. 235–241°) gab im DC nur einen Fleck, im $AgNO_3$-DC neben einem Hauptfleck (= *Monosid* a_1) **16** noch einen schwachen Fleck einer polareren Substanz (= *Monosid* a_2) **18**. Durch Chromatographie an $AgNO_3$-SiO_2-Säulen [9] konnte das Monosid «a» in die einheitlichen *Monoside* a_1 und a_2 aufgetrennt werden. Bei der sauren Hydrolyse gab das Monosid a_1 *Uzarigenin* (**5**) und D-*Canarose* (**20**) [10], das Monosid a_2 *Xysmalogenin* (**9**) und D-*Canarose*. Daraus folgt, dass die beiden (im Mengenverhältnis von etwa 9:1) im Glykosidgemisch «A» enthaltenen *Diglykoside* A_1 (**3**) und A_2 (**4**) sich nur im Steroidanteil voneinander unterscheiden und das nämliche Disaccharid als Zuckerbestandteil enthalten. Nach milder saurer Hydrolyse des Glykosids «A» konnte neben den Geninen Uzarigenin und wenig Xysmalogenin das neue Disaccharid *Canarobiose* (**11**) in Kristallen vom Smp. 217–223° und $[\alpha]_D^{25} = +12{,}1°$ (Endwert in Wasser) erhalten werden. Canarobiose liess sich auch aus dem AK I gewinnen. Dieses besteht fast ausschliesslich aus den Glykosiden «A» und «C». Letzteres ist (siehe weiter unten) Uzarigenin-glucosido-digitoxosid (**32**) und enthält noch wenig Xysmalogenin-glucosido-digitoxosid (**33**). Der aus AK I gewonnene Zuckerteil besteht somit aus Canarobiose und Digilanidobiose [20]. Diese beiden Disaccharide lassen sich relativ leicht voneinander trennen, da unter den Bedingungen der Glykosidspaltung Canarobiose besonders leicht in das Methylglykosid **13** übergeht. Dieses kann durch Chromatographie von den übrigen Zuckerbestandteilen abgetrennt werden. Aus **13** liess sich durch milde Hydrolyse reine krist. Canarobiose gewinnen. – Der oben erwähnte 2-Desoxyzucker D-*Canarose*[7]) ist inzwischen von ZORBACH [11] synthetisiert worden. Wir haben aus dem Monosid «a» nochmals eine grössere Menge dieses 2-Desoxyzuckers gewonnen und daraus das 2,4-Dinitrophenylhydrazon **21**[8]) sowie das *p'*-Nitro-diphenyl-*p*-sul-

---

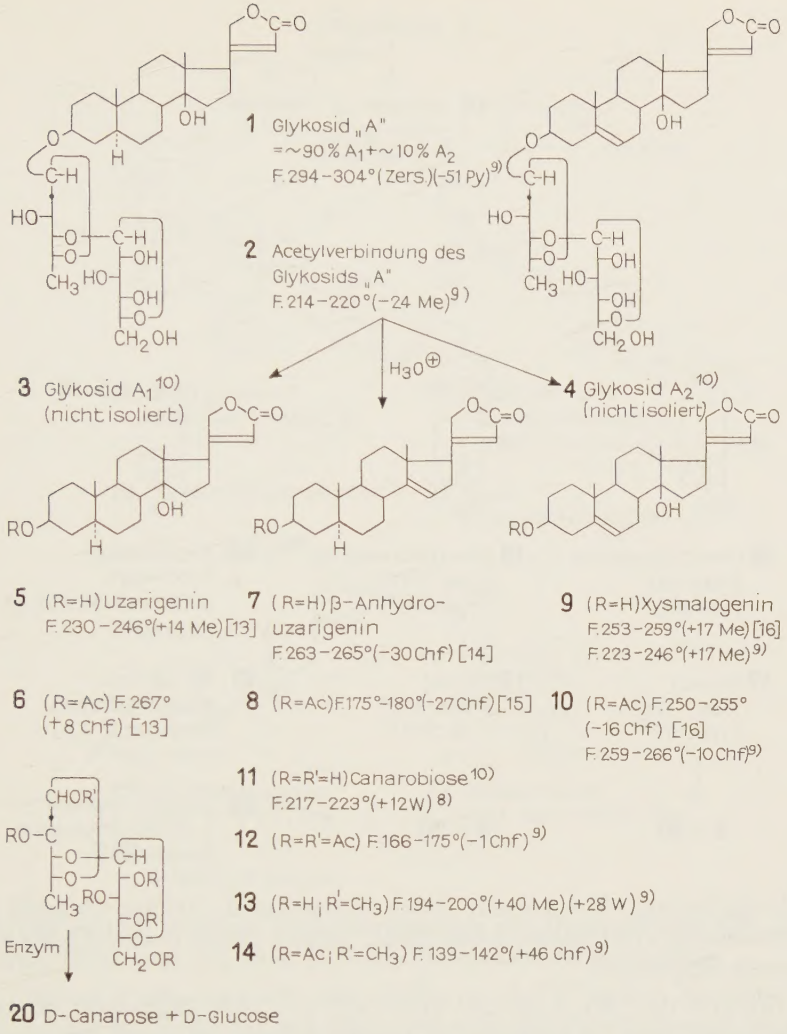
[4]) Die Besprechung der einzelnen mit Buchstaben bezeichneten Substanzen erfolgt aus praktischen Gründen in der Reihenfolge des Alphabetes.

[5]) Mit Ag-Salzen bilden ungesättigte Verbindungen lockere π-Komplexe, die polarer sind und sich dann meist in ihren Rf-Werten stärker unterscheiden als die ungesättigten Verbindungen selbst und vor allem als die sie begleitenden gesättigten Verbindungen [8].

[6]) Der Firma RÖHM & HAAS GmbH., Darmstadt, danken wir auch an dieser Stelle bestens für die Überlassung von Enzympräparaten. Die nähere Spezifikation dieser Fermentgemische ist im exper. Teil angegeben.

[7]) In der früheren Mitt. [1] über die Glykoside von *I. isabelliana* ist dieser Zucker erstmals nur als Sirup, später [10] dann auch aus *I. canariensis* in Kristallen erhalten worden.

[8]) Herr Prof. W. ZORBACH, Georgetown University, Washington, D.C., hat uns mit Brief vom 5 5.1966 mitgeteilt, dass die von uns aus *I. isabelliana* isolierte Canarose und ihr 2,4-Dinitrophenylhydrazon sowohl im Misch-Smp. als auch im Papierchromatogramm völlige Übereinstimmung mit synthetischer Canarose [11] und mit deren 2,4-Dinitrophenylhydrazon ergeben haben. Wir danken Herrn Prof. ZORBACH auch an dieser Stelle bestens für diesen Vergleich.



Ac = CH_3CO–. Die Zahlen in runden Klammern geben die spez. Drehung in den vermerkten Lösungsmitteln[11]) an.

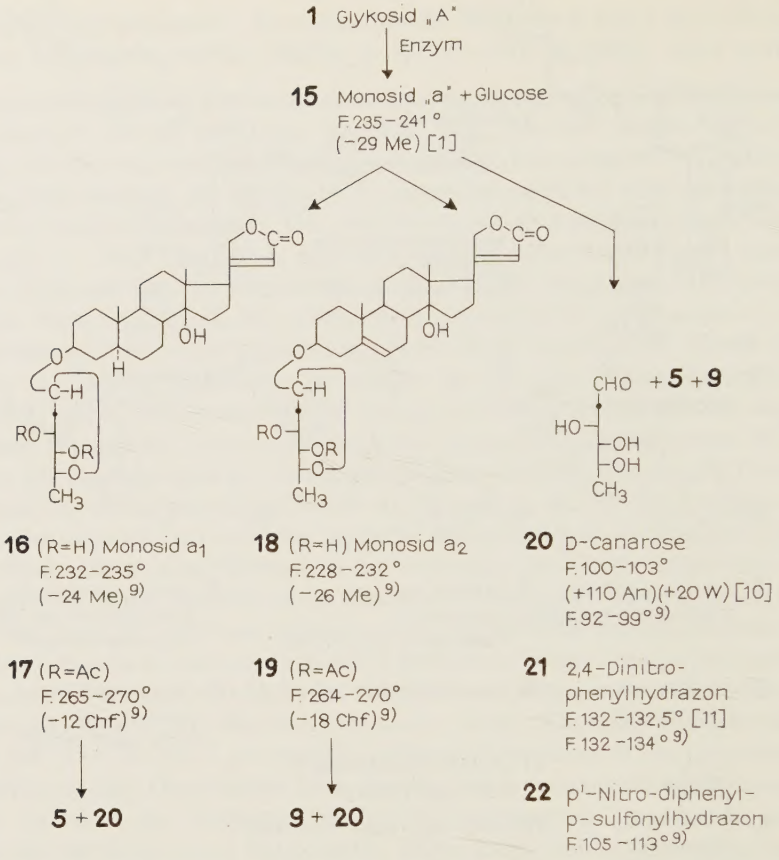
fonylhydrazon **22** [12] hergestellt. Letzteres wird in besseren Ausbeuten als **21** gewonnen, ist aber leider nicht sehr stabil und wird beim Umkristallisieren z. T. zersetzt.

3.2. *Glykosid B* (***23***), Smp. 262–266°, $[\alpha]_D^{25} = -1{,}0°$ (Methanol), ist Xanthydrolpositiv. Die Acetylverbindung **24**, Smp. 235–237°, $[\alpha]_D^{23} = +17{,}3°$ (Chloroform). Beim enzymatischen Abbau entsteht das *Monosid b* (**25**), das früher [1] mit Digitoxigenindigitoxosid (= *Evatromonosid* [17]) identifiziert werden konnte. Milde saure Hydrolyse von **23** gibt *Digilanidobiose* (**29**) als Zuckerbestandteil. **23** ist somit Digitoxigenin-

[9]) Siehe exper. Teil.

[10]) Die Verknüpfung der Zucker ist nicht bewiesen, sondern in Analogie zu **29** formuliert.

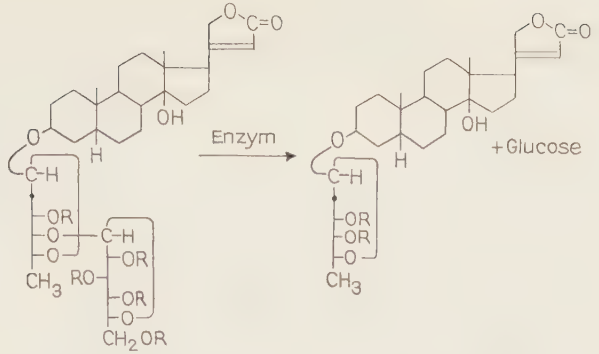
[11]) Abkürzungen für Lösungsmittel siehe Einleitung zum exper. Teil.



glucosido-digitoxosid. Vor kurzem haben KAISER *et al.* [18] ein Glykosid gleicher Zusammensetzung aus *Digitalis lanata* EHRH. isoliert. Dieses erwies sich als identisch mit unserem Präparat [12]).

3.3. *Glykosid «C»* (***30***), Smp. 230–245°, $[\alpha]_D^{22} = -14{,}9°$ (Methanol), Xanthydrol-Reaktion positiv, gibt im normalen DC nur einen Fleck, im $AgNO_3$-DC dagegen neben einem Hauptfleck noch einen sehr schwachen Fleck einer polareren Substanz. Die Acetylverbindung **31** vom Smp. 214–217° zeigte $[\alpha]_D^{23} = +15{,}4°$ (Chloroform). Bei der enzymatischen Hydrolyse wurde aus dem Glykosid «C» neben *Glucose* das *Monosid «c»* (**34**) erhalten, das nach Smp. und DC identisch mit dem früher beschriebenen Monosid c [1] war. Im $AgNO_3$-DC gibt Monosid «c» neben einem Hauptfleck einen sehr schwachen Fleck einer polareren Substanz. Durch Chromatographie an $AgNO_3$-SiO_2-Säulen [9] liess sich «c» in die einheitlichen *Monoside* c_1 (**35**) und c_2 (**37**) auftrennen. Milde saure Hydrolyse gab aus Monosid c_1 *Uzarigenin* (**5**) und *Digitoxose* (**39**), und aus Monosid c_2 *Xysmalogenin* (**9**) und *Digitoxose*. Das binäre Gemisch des Glyko-

[12]) Herrn Dr. F. KAISER, Forschungslaboratorien der C. F. BOEHRINGER & SÖHNE GMBH., Mannheim-Waldhof, danken wir auch an dieser Stelle bestens für die Überlassung von Vergleichspräparaten.

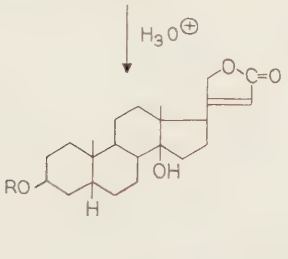


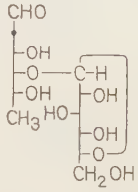
23 (R=H) Glykosid B
F. 262–266° (–1 Me) [18]

25 (R=H) Monosid b
(= Evatromonosid) [17]
F. 210–214° (–15 Me) [1]

24 (R=Ac) F. 235–237° (+17 Chf) [9]

26 (R=Ac)
F. 219–222° (+13 Chf) [1]





27 (R=H) Digitoxigenin
F. 250° (+19 Me) [19]

28 (R=Ac)
F. 220° (+19 Chf) [13]

29 Digilanidobiose
F. 229–230° (+30 W) [20]

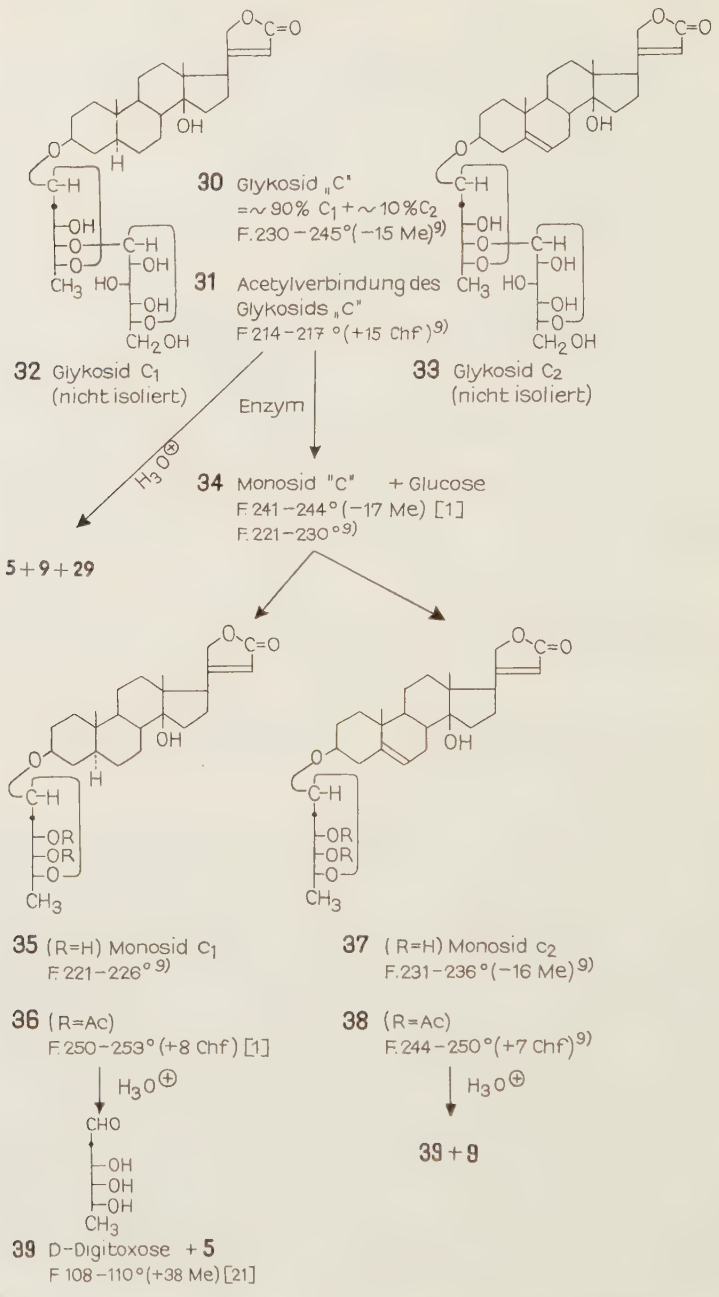
sids «C» (**30**) enthält somit als Zuckerkomponente nur *Digilanidobiose* (**29**), die durch milde saure Hydrolyse von **30** in Kristallen gewonnen werden konnte.

3.4. *Glykosid D* (***40***), Smp. 290–295°, $[\alpha]_D^{23} = -22{,}6°$ (Pyridin), Xanthydrol-Probe negativ, gab bei der Hydrolyse mit einem sehr aktiven Fermentpräparat (siehe exper. Teil) *Uzarigenin* (**5**) sowie *Fucose* (**42**) und *Glucose* und mit Strophanthobiase [22] zur Hauptsache das *Desglucoprodukt* **43**. Ein direkter Vergleich des Glykosids D mit *Cheirosid A* [23] (= Uzarigenin-glucosido-fucosid)[13]) ergab völlige Übereinstimmung.

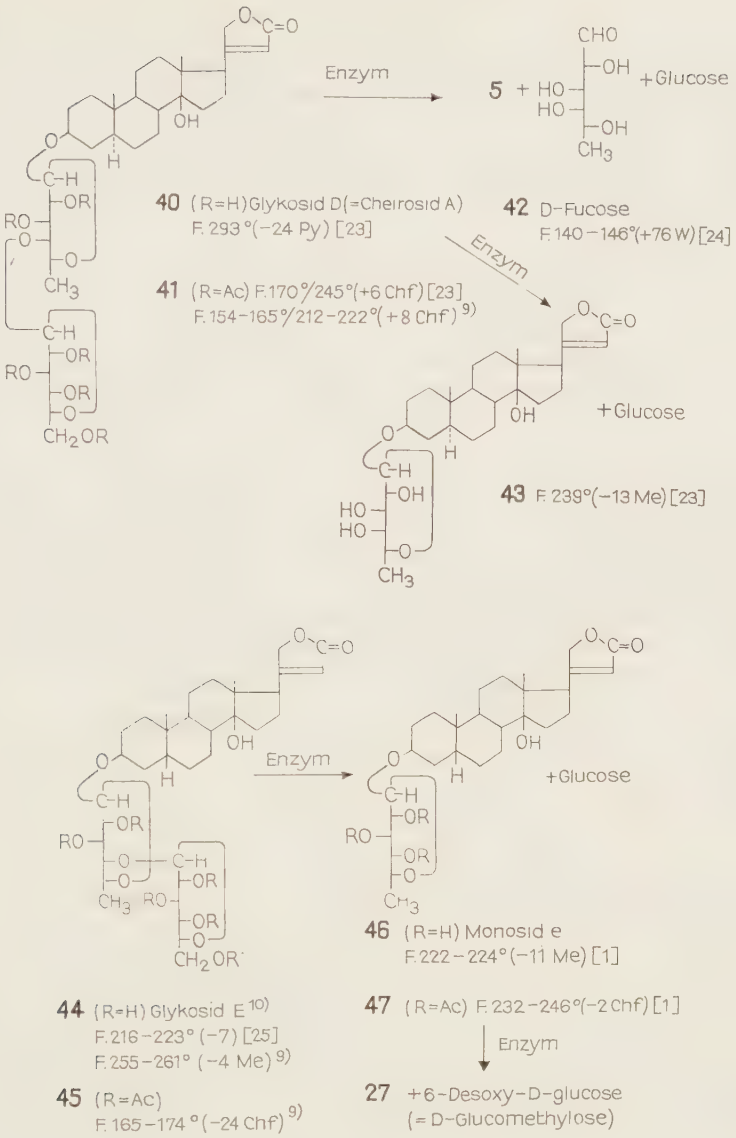
3.5. *Glykosid E* (**44**), Xanthydrol-negativ, Smp. 255–261°, $[\alpha]_D^{23} = -4{,}0°$ (Methanol), gab die kristallisierte Acetylverbindung **45** vom Smp. 165–174° mit $[\alpha]_D^{23} = -23{,}7°$ (Chloroform). Vorsichtiger enzymatischer Abbau von **44** gab *Glucose* und das *Monosid e* (**46**), das identisch mit dem früher [1] beschriebenen Monosid e (= Digitoxigenin-glucomethylosid) war. Durch längeres Einwirken eines aktiveren Fermentpräparates (siehe exper. Teil) erfolgte völlige Hydrolyse zu *Digitoxigenin* sowie *Glucose* und *Glucomethylose*. Das Glykosid E erwies sich beim direkten Vergleich als iden-

[13]) Herrn Prof. T. REICHSTEIN, Basel, danken wir bestens für die Überlassung zahlreicher Vergleichssubstanzen.

tisch mit dem vor kurzem von KAISER *et al.* [25] aus *Digitalis lanata* EHRH. isolierten Digitoxigenin-glucosido-glucomethylosid[12])[14]).



[14]) Dieses Präparat sollte bei 216–223° schmelzen [25], zeigte aber auf unserem KOFLER-Block den Smp. 244–257°.



3.6. *Glykosid «G»* (***48***), Smp. 176–180°, $[\alpha]_D^{22} = -10{,}3°$ (Methanol), schien nach DC einheitlich zu sein. Das rohe Acetylierungsprodukt gab im DC neben einem Hauptfleck einen schwachen, unmittelbar an diesen angrenzenden Fleck einer etwas polareren Substanz (= Acetylverbindung des Glykosids K, siehe unten). Durch Chromatographie und mehrmaliges Umkristallisieren wurde das Hauptprodukt der Acetylierung in einheitlichen Kristallen gewonnen, die sich als identisch mit der *Acetylverbindung* ***45*** *des Glykosids E* (**44**) erwiesen. Beim Stehenlassen in wässerig-methanolischer NH_3-Lösung bildete sich aus dem Glykosid «G» ein Produkt, das im DC 2 stark voneinander abgesetzte Flecke gab. Der Hauptfleck besass den Rf-Wert des

Glykosids E und der andere, schwächere, denjenigen des *Glykosids K* (siehe unten), das im DC in allen untersuchten Systemen gleich wie das Glykosid G lief, welches nie als einheitliches Produkt erhalten werden konnte. Milde enzymatische Hydrolyse des Glykosids «G» lieferte ein Produkt, das hauptsächlich aus *Monosid g* neben wenig der *Monoside e* und *k* bestand. Durch fraktionierte Kristallisation wurde daraus einheitliches *Monosid g* (**49**) gewonnen, das mit dem früher [1] beschriebenen Monosid g identisch war. Bei der Acetylierung gibt Monosid g die *Acetylverbindung* **47** *des Monosids e* (**46**)! Da das Monosid g durch milde Verseifung in das Monosid e übergeht und dieses von Rees *et al.* [1] als *Digitoxigenin-glucomethylosid* erkannt worden ist, muss Monosid g ein partiell acetyliertes Monosid e sein[15]). Auf Grund des IR.-Spektrums (siehe exper. Teil) besitzt Monosid g eine Estergruppierung, die sich im PR.-Spektrum (siehe Fig. 1) durch ein Singulett (3 H) bei 2,08 ppm als Acetoxygruppe zu erkennen gibt. Da die Signale des Lactonringes in **49** bei 5,85 ppm (Vinylproton) sowie bei 4,88 ppm (Quartett, etwa 2 Protonen) und die Signale aus dem Zuckerteil für C-1 bei 4,43 ppm (Dublett; $J = 8$ Hz) sowie dasjenige für das H an C-2 bei 4,77 ppm (Triplett; $J = 8$ Hz) erscheinen, muss C-2 als Träger der Acetylfunktion angenommen werden. Das wurde durch Entkoppeln des in D_6-Bz–D_6-DMSO aufgenommenen **49** direkt bewiesen. Da man bei den Cardenolidglykosiden fast nur (1→4)-Verknüpfungen findet und Monosid g aus einer Glucosidoverbindung hervorgegangen ist, muss sich die Acetoxygruppe in **48** auch an C-2 befinden. Diese Zuordnung steht im Gegensatz zu der bei der Acetyl-digilanidobiose, bei der die Essigsäuregruppe mit Sicherheit an C-3 der Digitoxose-Molekel zu plazieren ist [20][16]).

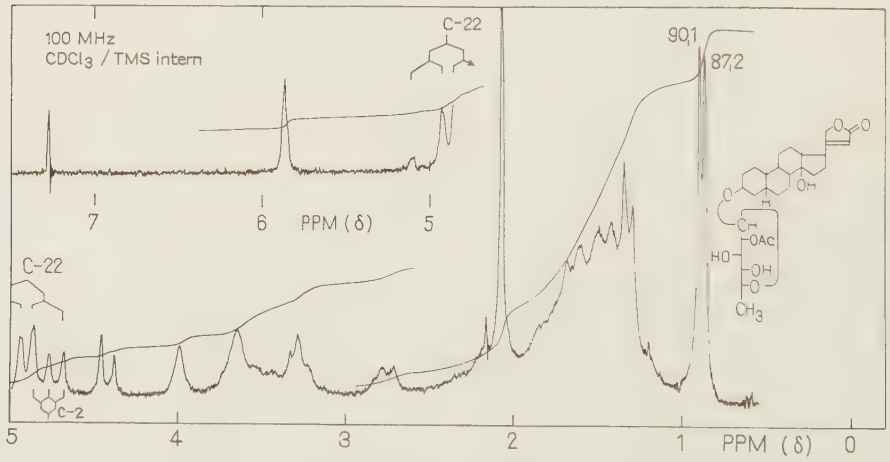


Fig. 1. *PR.-Spektrum von Monosid g* (**49**)

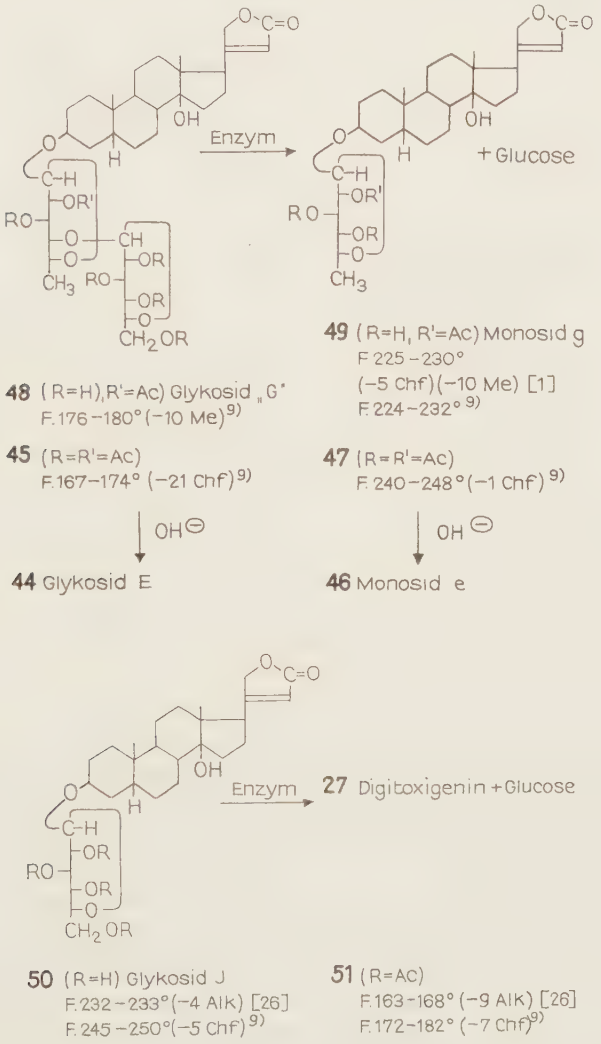
3.7. *Glykosid J* (**50**), Smp. 245–250°, $[\alpha]_D^{23} = -5{,}0°$ (Chloroform), Xanthydrol-Reaktion negativ, gab die kristallisierte Acetylverbindung **51** (Smp. 172–182°, $[\alpha]_D^{25}$ - 6,7° Chloroform). Bei der enzymatischen Spaltung von Glykosid J wurde

[15]) Das Monosid g wurde früher [1] als Digitoxigenin-gulomethylosid angesehen.

[16]) Vor kurzem konnten Kaiser *et al.* [25] durch PC zeigen, dass auch die Blätter von *Digitalis lanata* Ehrh. ein Digitoxigenin-glucosido-acylglucomethylosid enthalten dürften.

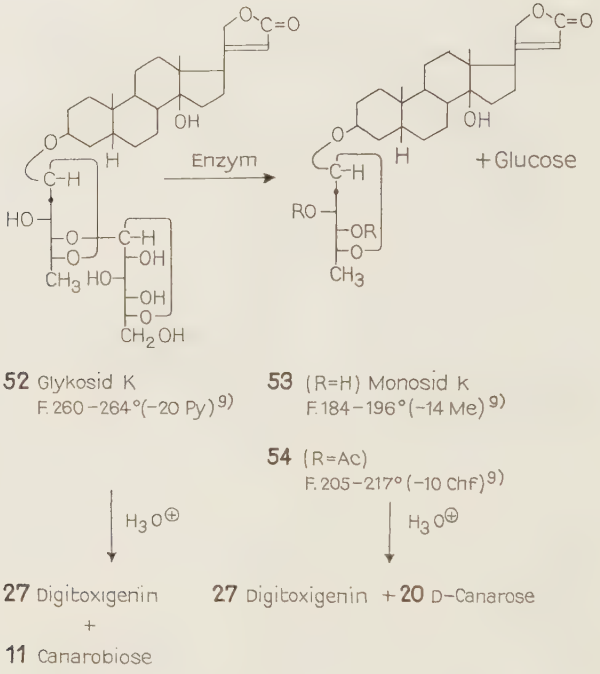
Digitoxigenin und *Glucose* erhalten. Ein direkter Vergleich des Glykosids mit Digitoxigenin-β-D-glucosid, das KAISER *et al.* [26][12]) vor kurzem aus *Digitalis lanata* EHRH. isolierten, ergab völlige Übereinstimmung der beiden Präparate.

3.8 *Glykosid K* (**52**) liess sich durch Behandlung einer rohen Probe des Glykosids «G» mit wässerig-methanolischem NH_3 und nachfolgende chromatographische Auftrennung von dem wesentlich polareren Hauptverseifungsprodukt (= Glykosid E)



abtrennen und in einheitlichen Kristallen vom Smp. 260–264° und $[\alpha]_D^{25} = -20° \pm 7°$ (Pyridin) gewinnen. Wegen Substanzmangels wurde die Acetylverbindung lediglich im Mikromasstab für vergleichende DC bereitet. Die enzymatische Spaltung (ebenfalls nur im Mikromasstab durchgeführt) gab neben *Glucose Monosid k* (**53**). Nach

saurer Hydrolyse von **52** liessen sich im DC u. a. *Digitoxigenin* und *Canarobiose* nachweisen, was auf die Identität von Monosid k mit *Digitoxigenin-canarosid* (**53**) hinweist. Eine zur eindeutigen chemischen Charakterisierung ausreichende Menge dieses Canarosids liess sich durch chromatographische Auftrennung eines Monosidgemisches gewinnen, welches aus einer grösseren Charge von Mutterlaugen des AK I durch enzymatischen Abbau erhalten worden war (siehe unten). Glykosid K ist somit Digitoxigenin-glucosido-canarosid.

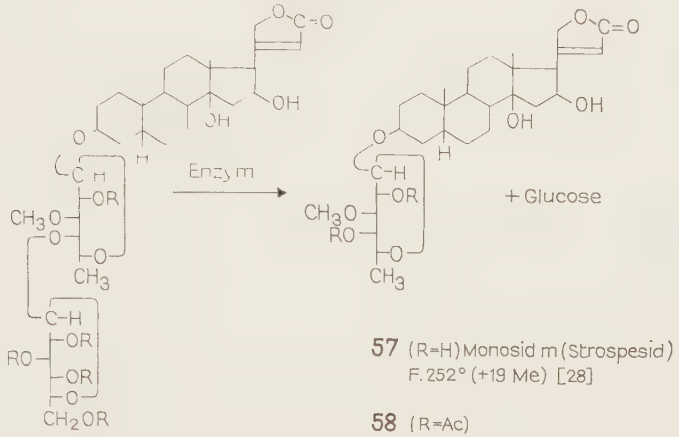


3.9. *Glykosid M* (**55**) zeigte den Smp. 233–236° und $[\alpha]_D^{21} = +3{,}7°$ (Methanol). Auf Grund dieser Daten und derjenigen der Acetylverbindung **56** sowie der Ergebnisse des enzymatischen Abbaus, wobei *Strospesid* **57** entstand, muss es sich beim Glykosid M um *Digitalinum verum* handeln, was ein direkter Vergleich mit authentischer Substanz bestätigte[13]).

4. Monoside. – Da für den Abbau der oben beschriebenen Diglykoside zu den ihnen zugrundeliegenden Monosiden z. T. nur kleine Substanzmengen zur Verfügung standen, haben wir grössere Mengen der Mutterlaugenrückstände des AK I fermentativ gespalten und das erhaltene Monosidgemisch, das eine bessere Aufteilung in die einzelnen Bestandteile gestattet, chromatographisch aufgetrennt. Dabei wurden zur Hauptsache die schon erwähnten Cardenolid-monoside erhalten. Soweit sie nicht schon früher [1] [2] beschrieben oder als einheitliche Substanzen erhalten worden waren, werden sie im exper. Teil unter 4. eingehender besprochen; es sind dies die *Monoside* a_1 = Uzarigenin-canarosid (**16**), a_2 = Xysmalogenin-canarosid (**18**), c_1 = Uzarigenin-digitoxosid (**35**), c_2 = Xysmalogenin-digitoxosid (**37**), k = Digitoxigenin-

canarosid (**53**) und *l* = Gitoxigenin-monodigitoxosid (= *Gitosid* bzw. *Gitorosid* [29] (**59**)[17])[18]).

Die KEDDE-negativen Substanzen des Monosidgemisches werden weiter unten besprochen (siehe unter **5**).

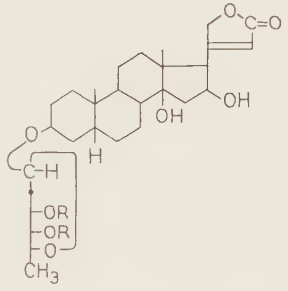


55 (R=H) Glykosid M (= Digitalinum verum)
F. 241° (+2 Me) [27]

56 (R=Ac)
F. 158°/230° (−17 Chf) [27]
F. 151–172° (−17 Chf) [9]

57 (R=H) Monosid m (Strospesid)
F. 252° (+19 Me) [28]

58 (R=Ac)
F. 227° (−2 Chf) [28]



59 (R=H) Monosid l (Gitorosid, Gitosid)
F. 210–216° (+25 Alk) [29]
F. 209–214° (+9 Alk) (+7 Me) [9]

60 (R=Ac)
F. 128–131° [29][18]
F. 188–193° (−Chf) [9]

Zusammenfassung und Besprechung der bisherigen Ergebnisse. – Die Cardenolidglykoside der getrockneten Blätter von *I. isabelliana* sind – soweit sie mit Chloroform-Alkohol-(4:1) extrahiert werden können – fast ausschliesslich Disaccharide mit endständiger D-Glucose. Das aus dem Gemisch dieser Glykoside relativ leicht (durch Aufnehmen in Aceton) zu gewinnende Kristallisat (= AK I [1]) besteht fast

---

[17]) Die Mutterlaugen des Monosids l gaben im DC nahe beieinander liegende Flecke, die alle im UV.-Licht stark blau fluoreszierten [30]. Eine zum Vergleich aufgetragene Mischung der *Mono-, Di- und Tri-digitoxoside des Gitoxigenins* zeigten dasselbe Bild.

[18]) Der von den japanischen Autoren [29] für Gitorosid angegebene Smp. stimmte mit demjenigen unseres Monosids l überein. Der Smp. der Acetylverbindung **60** lag bei unserem Präparat dagegen etwa 60° höher als von den japanischen Autoren angegeben wurde. Herr Dr. SATOH hatte die Freundlichkeit, uns eine grössere Probe seines Gitorosids zu überlassen, wofür wir ihm auch hier bestens danken möchten. Dieses zeigte völlige Übereinstimmung mit unserem Monosid l und gab nach der Acetylierung ebenfalls unser hochschmelzendes **60**; Dr. SATOH's **59** zeigte $[\alpha]_D^{20} = +12° \pm 2°$ (Äthanol).

ausschliesslich aus etwa gleichen Mengen Uzarigenin-glucosido-canarosid (**3**) (= Glykosid A_1) und Uzarigenin-glucosido-digitoxosid (**32**) (= Glykosid C_1), die den Hauptanteil der Glykoside von *I. isabelliana* ausmachen. **3** und **32** liessen sich zwar trennen, enthielten aber jeweils zu etwa 5–10% das entsprechende Xysmalogenin-diglykosid (= Glykosid A_2 (**4**) bzw. C_2(**33**)). Dies wurde u. a. durch partiellen enzymatischen Abbau zum Monosidgemisch und chromatographische Auftrennung desselben an $AgNO_3$-SiO_2-Säulen sichergestellt, wobei die bisher noch unbekannten Glykoside Uzarigenin-canarosid (**16**) (= Monosid a_1) und Xysmalogenin-canarosid (**18**) (= Monosid a_2) bzw. Uzarigenin-digitoxosid (**35**) (= Monosid c_1) und Xysmalogenin-digitoxosid (**37**) (= Monosid c_2) erhalten wurden[19]. Der früher [1] nicht identifizierbare neue und nur als Sirup erhaltene 2-Desoxyzucker wurde jetzt in Kristallen gewonnen und ist identisch mit D-Canarose (**20**), die erstmals in *I. canariensis* aufgefunden worden war [10]. Canarose und Boivinose [31] haben im PC (siehe [1] und [32]) praktisch dieselben Rf-Werte, können dagegen im DC (System Essigester) nach 5-maligem Entwickeln deutlich voneinander getrennt werden. Im Elektropherogramm lassen sich – wie REICHSTEIN *et al.* kürzlich zeigten [32] – diese beiden 2-Desoxyzucker leicht unterscheiden. – Während bei der milden sauren Hydrolyse des Glykosids «C» (= C_1 und C_2) das schon lange bekannte [33] Disaccharid Digilanidobiose (**29**)[20] entsteht (das sich als spezifischer Baustein des Zuckeranteils von vielen Glykosiden der Gattung *Digitalis* erwiesen hat), wird aus den Glykosiden «A» (= A_1 und A_2) und K ein Disaccharid, das wir Canarobiose (**11**) nennen, gebildet, das aus D-Canarose und Glucose besteht. Die Glykoside B (**23**) (Digitoxigenin-glucosido-digitoxosid), E (**44**) (Digitoxigenin-glucosido-glucomethylosid) und J (**50**) (Digitoxigenin-β-D-glucosid) sind inzwischen auch in *Digitalis lanata* EHRH. durch KAISER *et al.* [18] [25] [26] aufgefunden worden. Die als Glykosid «G» bezeichnete Substanz ist ein binäres Gemisch, das zur Hauptsache aus Digitoxigenin-4′(?)-glucosido-2′-acetyl-glucomethylosid (**48**) neben dem bisher noch unbekannten Digitoxigenin-glucosido-canarosid (**52**) (= Glykosid K) besteht. Den Glykosiden B, E und G liegen die früher [1] isolierten und als Substanzen b, e und g bezeichneten Monoside zugrunde. Wie hier gezeigt wird, ist allerdings das Monosid g Digitoxigenin-2′-acetyl-glucomethylosid und nicht, wie früher [1] vermutet, Digitoxigenin-gulomethylosid. – Uzarigenin-glucosido-fucosid) (**40**) (= Glykosid D = Cheirosid A [23]) ist hier zum ersten Mal in *I. isabelliana* aufgefunden worden. Aus den Blättern von *Digitalis purpurea* und *D. lanata* sind ebenfalls Fucose enthaltende Glykoside isoliert worden [34], denen aber Digitoxigenin als Aglykon zugrunde liegt. – Die früher [1] beschriebenen Monoside f und h, bzw. die ihnen entsprechenden Glucosidoverbindungen konnten nicht aufgefunden werden. (Das Monosid f = Digitoxigenin-allomethylosid sowie dessen Glucosidoverbindung sind kürzlich von KAISER (s. unter [25]) in den Blättern von *Digitalis lanata* nachgewiesen worden.) – Nachdem früher [2] aus dem Chloroformextrakt Strospesid (**57**) isoliert worden war, ist es nicht verwunderlich, wenn unter den Primärglykosiden jetzt auch dessen Glucosidoverbindung *Digitalinum verum* (**55**) (= Glykosid M) aufgefunden wurde. Da sonst kein anderes genuines Gitoxigeninglykosid gefasst werden

[19] Die früher als Substanzen a und c beschriebenen Monoside waren also jeweils binäre Gemische, die fast ausschliesslich aus den dort [1] angegebenen Glykosiden bestanden.

[20] Dieses Disaccharid haben BRETÓN & GONZÁLEZ [4] als einzigen kristallinen Zucker nach Hydrolyse eines aus *I. isabelliana* isolierten Glykosidgemisches erhalten.

konnte, lässt sich nicht mit Sicherheit sagen, welches Primärglykosid dem nach Fermentierung gewonnenen Gitoxigenin-digitoxosid (**59**) (= Monosid 1) entspricht. Da – wie oben bereits ausgeführt [17] – auch zuckerreichere (Digitoxose?) Verbindungen des Monosids 1 im DC nachgewiesen werden konnten, könnte *I. isabelliana* u. U. auch kleine Mengen Purpureaglykosid B (oder Lanatosid B) enthalten.

Auf Grund der molekularen Drehungsbeiträge der Glucose ergibt sich nach KLYNE [35] für die hier beschriebenen Primärglykoside (Diglykoside) eine β-glykosidische (vermutlich $1 \rightarrow 4$) Verknüpfung der endständigen Glucosemolekel mit den ihnen zugrundeliegenden Monosiden, für die ihrerseits bereits früher [1] die β-glykosidische Bindung nach [35] abgeleitet worden ist [21].

5. Charakterisierung und chemische Untersuchung der KEDDE-negativen Substanzen des Monosidgemisches. **5.1**. Die *Substanz «HF 1»*, Smp. 189–190°, $[\alpha]_D^{23} = -70{,}7°$ (Chloroform), schien nach DC einheitlich zu sein. Ihre Acetylverbindung, die im DC 2 Flecke gab, liess sich chromatographisch in die *Substanzen Ac-HF 1a* (Smp. 189–200°) und *Ac-HF 1b* (Smp. 155–163°) auftrennen. Auf Grund des MS von «HF 1» mit dem Hauptpik bei *m/e* 139 dürfte es sich um Sapogenine handeln [36]. Die Summenformel $C_{27}H_{44}O_3$ (416) deutet auf ein gesättigtes Gerüst hin.

5.2. *Substanz «HF 2»* konnte durch Chromatographie des rohen Kristallisates in die *Substanzen HF 2a* und *HF 2b* aufgetrennt werden. – *HF 2a*, Smp. 190–210°, $[\alpha]_D^{23} = +12{,}3°$ (Methanol), dürfte $3\beta,14\beta$-Dihydroxy-pregn-5-en-20-on (**61**) sein. Das Massenspektrum (MS) zeigt den M^+ bei *m/e* 332, der Wasser zu *m/e* 314 verliert. *m/e* 314 fragmentiert sich unter Verlust von 43 Masseinheiten (ME) zu *m/e* 271. *m/e* 43 ist ausserdem im niederen Massenbereich noch 1 mal vorhanden und zwar als Hauptpik des ganzen Spektrums. Dies ist ein starkes Indiz dafür, dass HF 2a eine Methylketon-Seitenkette entsprechend Formel **61** besitzt. Die Acetylverbindung **62** vom Smp. 173–193° zeigt nur ein äusserst schwaches Molekel-Ion bei *m/e* 374 (HF 2a-Monoacetylverbindung), das unter Verlust von Essigsäure in *m/e* 314 übergeht. Dieses verliert erst Wasser zu *m/e* 296, dann Methyl zu *m/e* 281; *m/e* 296 verliert ausserdem CH_3CO zu *m/e* 253. Komplementär dazu findet sich im niederen Massenbereich wiederum *m/e* 43, was auch hier den Hauptpik des Spektrums darstellt. Aus dem MS von **61** kann man bei Annahme des Pregnangerüstes auf folgende funktionelle Gruppen schliessen: 1 CH_3CO–, 1 acylierbare und 1 nicht acylierbare HO-Gruppe sowie eine Doppelbindung. Das IR.-Spektrum der Acetylverbindung **62** (siehe exper. Teil) bestätigt diese Zuordnung. Einzig für die Doppelbindung findet sich hier kein Hinweis. Das PR.-Spektrum von **62** (siehe Fig. 2) spricht eindeutig für diese Formulierung und bekräftigt diese noch. Das breite Dublett eines Vinylprotons bei 5,4 ppm ist nach Lage und Aufspaltung typisch für die 3β-RO-Δ^5-Gruppierung [37]. Das breite flache CH-Signal einer äquatorialen Acetoxygruppe mit vielen CH-Nachbarn ist bei 4,55 ppm zentriert. Die Methylgruppen der CH_3CO- und CH_3–$C(=O)$–O- Substituenten finden sich bei 2,23 und 2,02 ppm. Die Signale zweier tertiärer Methylgruppen fallen zusammen und liegen bei 1,01 ppm. Berechnet man die Lage dieser Methylgruppen

[21] Da weder α- noch β-Methylcanarosid bekannt sind, wurde der Berechnung nach KLYNE [35] die molekulare Drehung von **20** zugrundegelegt.

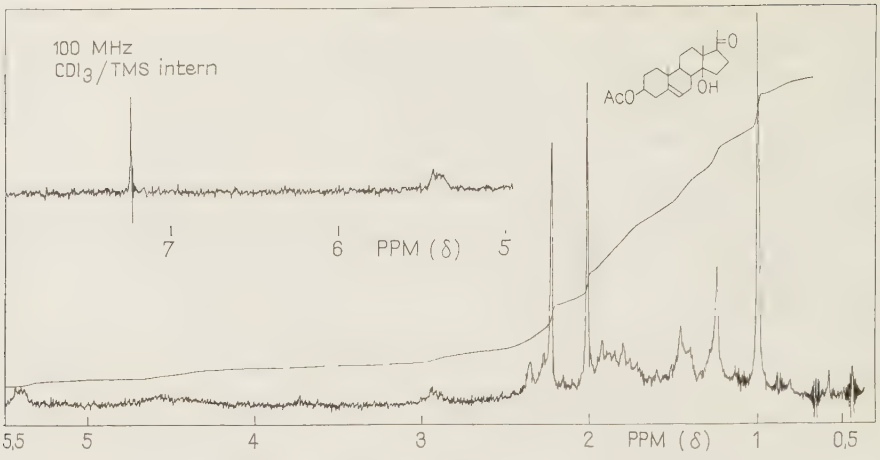


Fig. 2. *PR.-Spektrum von Acetyl – HF 2a* (**62**)

nach den ZÜRCHER-Tabellen [38] (wobei $CH_3OC\overset{O}{<}$ gleich CH_3CO- gesetzt wurde), so liegen die gefundenen Werte nahe den berechneten: C-18 bei 1,02 ppm und C-19 bei 1,04 ppm. Damit dürfte die Struktur für HF2a entsprechend der Formel **61** gesichert sein.

Die *Substanz HF 2b* (**63**), Smp. 223–243° (Zers.), $[\alpha]_D^{21} = +57{,}3°$ (Pyridin), besitzt nach dem MS (M^+ 346) die Zusammensetzung $C_{21}H_{30}O_4$. Prominente, leicht erkennbare Pike sind weiter M^+ *minus* Wasser = *m/e* 328 und *m/e* 328 *minus* CH_3CO = *m/e* 285. Der Hauptpik liegt auch hier im niederen Massenbereich bei *m/e* 43. Das Molekel-Ion der Acetylverbindung von HF2b (Smp. 206–211°) findet man bei *m/e* 388 (sehr schwach). *m/e* 328 (388 *minus* Essigsäure), *m/e* 310 (328 *minus* Wasser) und *m/e* 267 (310 *minus* CH_3CO) wie auch der Hauptpik *m/e* 43 sind leicht erkenn- und deutbare Fragmente. Wenn man für HF2b ein Pregnangerüst annimmt, so besitzt dieses nach dem MS 2 Hydroxyle und eine Methylketon-Seitenkette. Als weitere funktionelle Gruppen müssen dann noch entweder 2 Doppelbindungen und ein weiteres Hydroxyl oder eine Doppelbindung und ein Keton vorhanden sein. Den Entscheid in dieser Frage gibt das IR.-Spektrum (siehe exper. Teil) der Acetylverbindung **64**, das neben der Bande für ein Methylketon (bei 5,91 μ) noch Banden für ein Estercarbonyl (bei 5,79 μ) und ein Fünfringketon (bei 5,72 μ) aufweist. Die breite HO-Bande bei 3,04 μ deutet auf ein durch H-Brücke gebundenes Hydroxyl hin. Das PR.-Spektrum der Acetylverbindung (siehe Fig. 3) zeigt das «Multiplett» eines Vinylprotons bei 5,42 ppm, dessen Form man infolge der Überlagerung durch das Singlett (5,40 ppm) eines **H**-O - nicht genau erkennen kann. Eine äquatoriale Acetylgruppe lässt sich durch ein breites CH-Signal (Multiplett) bei 4,55 ppm erkennen. Die Methyl-Signale eines Methylketons und des Essigsäurerestes finden sich bei 2,35 und 2,02 ppm, 2 tertiäre Methylgruppen bei 1,07 und 0,98 ppm. Die nach den ZÜRCHER-Tabellen [38] für die Acetylverbindung **64** berechneten Werte (auch hier statt CH_3–CO $CH_3OC\overset{O}{<}$ eingesetzt) für C-18- und C-19-Methyl sind: 1,00 ppm bzw. 1,10 ppm. SATOH *et al.* [39] haben ganz kürzlich eine Substanz beschrieben, für die

sie die Struktur **64** bewiesen haben. Die von den japanischen Autoren angegebenen Daten stimmen mit denjenigen der Acetylverbindung von HF2b sehr gut überein. Ein direkter Vergleich[22]) ergab Identität dieser beiden Substanzen.

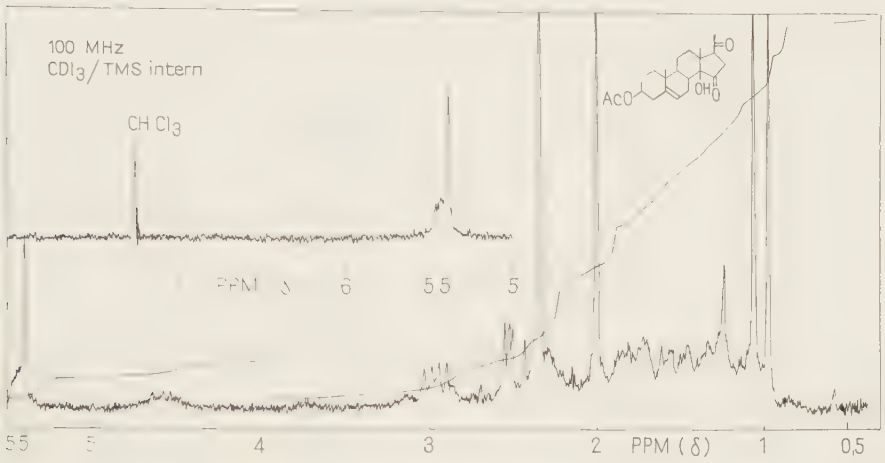


Fig. 3. *PR.-Spektrum von Acetyl – HF 2b* (*64*)

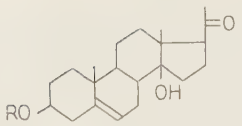
5.3. Die *Substanz HF3* (**65**) ist nach Smp., Misch-Smp., optischer Drehung und DC identisch mit γ-Digiprogenin [39][23]).

5.4. Die *Substanz HF4* (**67**), Smp. 199–204°, $[\alpha]_D^{25} = 0° \pm 7°$ (in Pyridin), Xanthydrol-Reaktion positiv, besitzt auf Grund des MS die Formel $C_{27}H_{40}O_7$ (476). Milde saure Hydrolyse gab neben Substanz HF2b *Digitoxose* (nur im DC nachgewiesen).

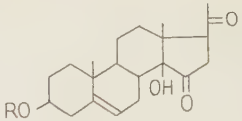
5.5. Die *Substanz HF* **5** (**68**), Smp. 236–248°, $[\alpha]_D^{22} = +26{,}2°$ (in Methanol) besitzt nach MS die Formel $C_{21}H_{32}O_4$ (348). Bemerkenswert ist der Befund, dass aus HF5 44 ME (hier nicht CO_2 sondern CH_2=CHOH!) abgespalten werden zu *m/e* 304, das wiederum 2mal Wasser, CH_3 und CH_3CO verliert. Komplementär zum letzten Fragment findet man im niederen Massenbereich einen starken (*m/e*-43)-Pik. Das IR.-Spektrum weist neben 3 HO-Banden bei 2,86, 2,9 und 2,95 μ eine Carbonylbande bei 5,95 μ auf. Die selektive Absorption der Acetylverbindung im UV. bei 280 nm und $\log \varepsilon = 1{,}78$ spricht für das Vorliegen eines gesättigten Ketons. Aus diesen Fakten ergeben sich bei Annahme eines Pregnan-Grundgerüstes die folgenden Funktionen: 3 HO-Gruppen, 1 CH_3CO-Gruppe und eine Doppelbindung. Das PR.-Spektrum (siehe Fig. 4) der Acetylverbindung **69** [Doppel-Smp. 127–130°/139–141°, $[\alpha]_D^{21} = +13{,}4°$ (in Chloroform)] zeigt ein breites Dublett eines Vinylprotons bei 5,44 ppm (typisch für 3β-RO-Δ^5-Gruppierung [37]), ein Quartett bei 5,22 ppm mit den Aufspaltungen 7 Hz und 2 Hz – das gleiche Signal findet man auch beim 3β,15α-Diacetoxy-14β-hydroxy-5β,17αH-ätiansäure-methylester [43] [44], das somit dem 15βH zugeordnet werden muss –, das breite CH-Signal einer äquatorialen Acetoxy-

[22]) Herrn Dr. H. Ishii, Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd., Osaka (Japan), danken wir bestens für die Überlassung einer Substanzprobe von **64**.

[23]) Herrn Dr. D. Satoh, Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd., Osaka (Japan), danken wir bestens für ein Vergleichsmuster.



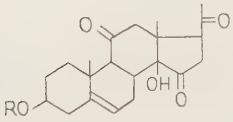
61 (R=H) HF 2a
F. 190–210° (+12 Me) [9]



63 (R=H) HF 2b
F. 223–243° (Zers.) (+57 Py) [9]

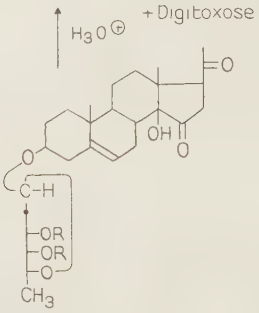
62 (R=Ac)
F. 173–193° [9]

64 (R=Ac)
F. 207–209° [39]
F. 206–211° [9]



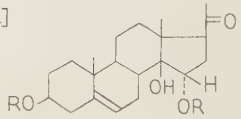
65 (R=H) HF 3 = γ-Digiprogenin [39]
F. 250–253° (–73) [40]
F. 244–249° (–80 Py) [9]

66 (R=Ac)
F. 247–250° [41]
F. 223–238° [9]



67 (R=H) HF 4
F. 199–204° (±0 Py) [9]

68 (R=H) HF 5 = Purpnigenin [42]
F. 239–243° (+21 Me) [42]
F. 236–248° (+26 Me) [9]



69 (R=Ac)
F. 150–153° [42]
F. 127–130° → 139–141° (+13 Chf) [9]

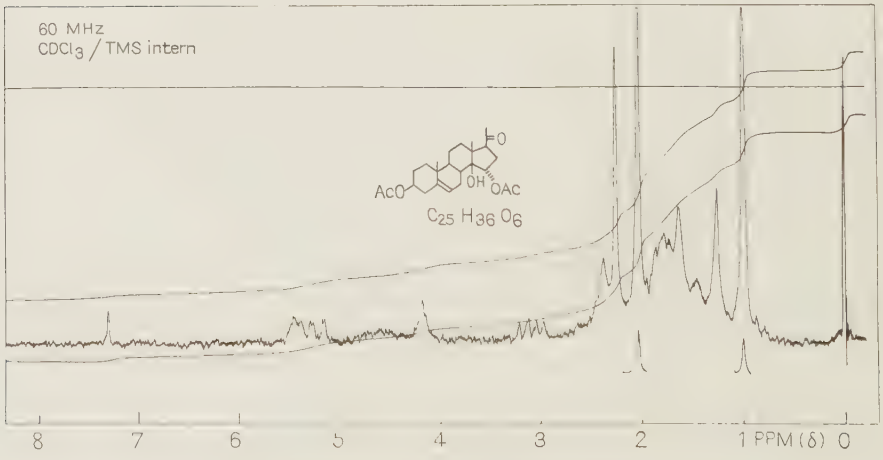


Fig. 4. *PR.-Spektrum von Diacetyl-Purpnigenin* (**69**)

gruppe (C-3) bei 4,6 ppm, dann ein beim Schütteln mit D_2O verschwindendes Signal bei 4,18 ppm (HO–), 3 CH_3CO-Gruppen [Methylketon (2,25 ppm) und 2 O-Acetylgruppen (2,03 ppm)] und 2 tertiäre Methylgruppen bei 1,0 ppm. Auf Grund dieser Befunde muss es sich bei HF5 um Purpnigenin 42 handeln. Ein direkter Vergleich mit Purpnigenin[22]) hat diese Ableitung bewiesen.

Die vorliegende Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt.

Den Herren Dres. G. Englert und W. Vetter, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, danken wir bestens für ihre Mithilfe bei der Interpretation der Massen- und PR.-Spektren sowie den Herren P. Casagrande und B. Meier für die Aufnahme dieser Spektren. Herrn Dr. F. Burkhardt, Physiklabor der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, danken wir ausserdem für die Bestimmung der spez. Drehung der Substanzen **59** und **64**.

Experimenteller Teil

Allgemeines. – Alle Smp. wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze bis 200° ca. ± 2°, darüber ca. ± 3°.

Abkürzungen: Ac_2O = Acetanhydrid, AcOH = Eisessig, Ä = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Bz = Benzol, Chf = Chloroform, DC = Dünnschichtchromatographie oder Dünnschichtchromatogramm, E = Essigsäure-äthylester, EW = E mit W gesättigt, Fr = Fraktion(en), Isop = Isopropylalkohol, Me = Methanol, Mek = Methyl-äthyl-keton, MekW = mit W gesättigtes Mek, «Mischung» = E-Chf-Me-(1:1:1), ML = eingedampfte Mutterlauge(n), Pe = Petroläther, Pn = *n*-Pentan, Py = Pyridin, SiO_2 = Kieselgel (zur DC: SiO_2 «Camag» mit 5% $CaSO_4$, zur Säulenchromatographie: SiO_2 «Merck» 0,05–0,2 mm), To = Toluol, Tr = Tropfen, W = Wasser.

Chromatographie. Für die DC wurden Glasplättchen der Grössen 2,5 × 7,5 cm, 3,5 × 7,5 cm und 4,5 × 7,5 cm mit Hilfe eines Quickfit Thin Layer Chromatography Demonstration Kit mit einer wässerigen Aufschlemmung von SiO_2 beschichtet und lufttrocken ohne vorangegangene Aktivierung verwendet. $AgNO_3$-DC: 10 g SiO_2 wurden mit der Lösung von 2 g krist. $AgNO_3$ in 25 ml W $^1/_2$ Min. kräftig durchgeschüttelt und sofort (z. B. auf 25 Glasplättchen 2,5 × 7,5 cm) aufgetragen. Trocknung bei 20°. Verwendung erst nach 24 Std. und innerhalb einer Woche. Bei der $AgNO_3$-DC wurde jeweils 2–3mal mit dem angegebenen Laufmittel entwickelt. Als Sprühreagens diente sowohl für die normale DC als auch die $AgNO_3$-DC ein Gemisch von konz. H_2SO_4-Alk-(1:1) Das Erhitzen erfolgte über einem Infrarotstab. – Bereitung von $AgNO_3$-SiO_2 für die Säulenchromatographie. Beispiel: 50 g krist. $AgNO_3$ wurden in 100 ml W gelöst und zu 450 g SiO_2 unter Schütteln gegeben; Trocknung bei 120° während 16 Std. Die einzelnen Fr wurden jeweils vor dem Eindampfen im Vakuum im Scheidetrichter 2mal mit W gewaschen.

Für *enzymatische Spaltungen* wurden die Fermentpräparate E.L. 33-63 (= Fermentpräparat I) und E.L. 15–63 (= Fermentpräparat II) der Firma Röhm & Haas[6]) [24]) sowie Strophantobiase [22] verwendet.

Gewinnung des Rohkristallisates AK I aus dem Chf-Alk-(4:1)-Extrakt. 30 g Chf-Alk-(4:1)-Extrakt [1] wurden unter Erwärmen auf dem Dampfbad mit 1 l An versetzt, wobei der grösste Teil des Extraktes in Lösung ging. Nach dem Abkühlen wurde der pulverige Bodensatz abfiltriert und mit An nachgewaschen: 8,3 g Rohkristallisat = AK I vom Smp. 265–285° (Zers.). Im DC (MekW) 2 etwa gleich grosse Flecke der genuinen Glykoside «A» und «C». Durch Einengen der ML konnten weitere Kristallfraktionen erhalten werden, deren Smp. etwas tiefer waren. Nach

[24]) Das Präparat E.L. 33-63, aus Schimmelpilzen gewonnen und angereichert, enthält Pektinasen, Cellulasen und andere β-Glucosidasen; Wirkungsoptimum pH 4–5,5. Das Präparat E.L. 15-63 stammt aus Schimmelpilzen und enthält Proteinasen, Glucosidasen und Amylasen; Wirkungsoptimum für die darin enthaltenen Glucosidasen pH 4–5,5. Wir fanden, dass beide Präparate noch gut wirksam in wässerigen Lösungen sind, die maximal 40% An und bis 5% Me enthalten. Das Präparat E.L. 33-63 ist erheblich aktiver, d. h. die Abspaltung von Glucose, Glucomethylose oder Fucose an der Zuckerkette bzw. am Aglykon erfolgt wesentlich rascher als mit Fermentpräparat E.L. 15-63.

DC hatten diese nahezu dieselbe Zusammensetzung wie AK I. Durch Umkristallisieren (vgl. [1]) liessen sich zwar fast farblose Kristallisate gewinnen, doch stellten diese immer Gemische dar, die fast ausschliesslich aus den Glykosiden «A» und «C» bestanden.

1. Isolierung der genuinen Glykoside

1.1. *Auftrennung des Rohkristallisates in die Glykoside «A» (**1**) und «C» (**30**)*

1.1.1. *Durch präparative DC.* Glasplatten (20 × 15 cm) wurden mit SiO_2 mit 0,5% Zinksilicat-Zusatz bestrichen (1 mm Schichtdicke) und 24 Std. an der Luft trocknengelassen. Unter Einhaltung eines Abstandes von jeweils 1 cm vom Plattenrand wurde auf der Startlinie 0,6 ml einer Lösung von AK I in Chf-Me-(4:1) (= 7,5 mg Substanz) aufgetragen. Die Platten wurden im System MekW entwickelt ($3^1/_2$ Std.). Nach dem Trocknen an der Luft erschienen im UV.-Licht (sowohl bei 254 nm als auch bei 360 nm) 2 deutlich voneinander abgesetzte dunkle Banden (neben nur schwach sichtbaren Nebenbanden). Die beiden Hauptbanden wurden markiert, herausgeschabt und das SiO_2 mit Chf-Me-(4:1) unter Erwärmen extrahiert. Einzig das aus der obersten Bande stammende *Glykosid «A»* (**1**) gab im DC [mit MekW oder Chf-Me-(7:3)] nur *einen* Fleck. Nach mehrmaligem Umlösen aus Chf-Me-(4:1) feine weisse Nädelchen vom Smp. 294–304°.

1.1.2. *Durch Säulenchromatographie.* 7 g AK I wurden in Chf-Me-(1:1) in der Wärme gelöst, mit Hyflo-Supercel vermischt und dieses nach dem Trocknen fein verrieben. Dieses Gemisch wurde trocken auf eine SiO_2-W-Säule (740 g SiO_2 + 220 ml W), die mit EW bereitet worden war, gegeben, leicht festgedrückt und mit einer Schicht Sand bedeckt. Bei einer Tropfgeschwindigkeit von 20 Tr pro Min. wurden Fr zu 200 ml aufgefangen. Ergebnis s. Tabelle 1.

Tabelle 1. *Chromatographie des Rohkristallisates AK I*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel	roh		Kristalle	
		Menge in mg	DC	Menge in mg	DC
1– 7	EW				
8– 36	EW + 1% Me				
37– 43	EW + 1,5% Me	136	unpol. Stoffe		
44– 50	EW + 1,5% Me	341	unpol. Stoffe «A»		
51– 59	EW + 1,5% Me	624	«A» + («C»)	475	«A»
60– 63	EW + 1,5% Me	292	«A» + «C»		
64– 68	EW + 1,5% Me	1187	«A» + «C»		
69– 74	EW + 1,5% Me	678	(«A») + «C»		
75–112	EW + 1,5% Me*)	2523	(«A»), «C» + polarere Stoffe		

*) von Fr 88 weg 2% Me, von Fr 94 weg 4% Me

Die aus den Fr 51–59 erhaltenen Eindampfrückstände wurden vereinigt und aus Chf-Me kristallisiert: 475 mg nach DC einheitliches *Glykosid «A»*. Das in den Fr 64–68 angereicherte *Glykosid «C»* konnte auch nach mehrmaligem Umlösen aus Chf-Me nicht frei von Glykosid «A» gewonnen werden.

1.2. *Auftrennung der Glykoside J (**50**), «G» (**48**) [= G + K (**52**)], B (**23**), «C» (**30**) [= C_1 (**32**) + C_2 (**33**)], E (**44**), D (**40**) und M (**55**) aus den ML von AK I.* Zur Gewinnung der im Titel genannten Glykoside waren oft mehrere chromatographische Auftrennungen nötig. Es wurden jeweils 10 g ML des AK I im Vakuum getrocknet, mit der gleichen Menge SiO_2-W-(4:1) fein verrieben, mit EW angefeuchtet und diese Mischung auf die vorbereitete Säule gegeben. Beispiel: Säule von 4,2 cm Durchmesser mit 545 g SiO_2-W (420 g SiO_2 + 125 g W), Füllhöhe 60 cm; Lösungsmittel EW, Fr zu 200 ml, Durchlaufgeschwindigkeit 0,5 ml/Min.; Ergebnis s. Tab. 2.

Tabelle 2. *Chromatographie der Mutterlaugenrückstände des Rohkristallisates AK I*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel	roh		Kristalle		
		Menge in mg	DC	Menge in mg	DC	Smp.
1– 16	EW	1236	unpolare Stoffe			
17– 22	EW + 0,5% Me	248	J + unpol. Stoffe	90	fast rein	
23– 24	EW + 0,5% Me	48	J, «G»			
25– 28	EW + 0,5% Me	103	«G» + Verunr.	14	fast rein	
29– 33	EW + 0,5% Me	547	«G» + Verunr.	340	fast rein	
34	EW + 0,5% Me	95	«G», B			
35– 36	EW + 0,5% Me	314	B + («G»)	160	B fast rein	
37– 44	EW + 0,5% Me	2245	B + Verunr.	1982	rein	260–265°
45– 48	EW + 0,5% Me	198	B + («C»)	51	B fast rein	
49	EW + 0,5% Me	32	B, «C»			
50– 61	EW + 0,5% Me	1051	«C» + Verunr.	709	rein	249–268°
62– 69	EW + 0,5% Me	134	«C» + (E)			
70– 79	EW + 0,75% Me	138	«C» + (E)			
80– 82	EW + 1% Me	101	E + («C»)			
83– 90	EW + 1% Me	582	E	432	rein	
91– 98	EW + 1% Me	194	E + Verunr.			
99–105	EW + 1% Me	99	D + (E)			
106–112	EW + 1,5% Me	47	D + Verunr.			
113–116	EW + 2% Me	58	D + Verunr.			
117–120	EW + 2% Me	160	D + Verunr.	60	fast rein	
121	EW + 2% Me	23	D + M			
122–133	EW + 2% Me	160	M + Verunr.	33	fast rein	
134–138	EW + 4% Me	167	M + polarere Stoffe			
139–144	EW + 8% Me	119	M + polarere Stoffe			

Die Eindampfrückstände der Fr. 17–22 waren nach DC [MekW oder Chf-Me-(7:3) bzw. -(9:1)] identisch und gaben aus An-Ä 90 mg rohes *Glykosid J* (**50**). Durch Umlösen aus An-Me wurden 34 mg einheitliche Substanz vom Smp. 244–250° erhalten. Weitere 30 mg Kristalle vom Smp. 244–250° enthielten noch wenig einer unpolareren Verunreinigung.

Das aus den Fr. 25–28 gewonnene Substanzgemisch gab aus An-Ä rohes *Glykosid «G»* (**48**), das im DC nur *einen* Fleck gab. Die Rückstände der Fr. 29–33 wurden in Me gelöst, mit Ä versetzt und bei 10° stehengelassen. Die nach einiger Zeit von Kristallen durchsetzte Schmiere wurde mit An-Ä und wenigen Tr Me verflüssigt und abgesaugt: 304 mg Glykosid «G», das nach DC fast rein war. Eine weitere Kristallfraktion von 36 mg gab im DC nur einen Fleck von «G». Aus den obigen 304 mg wurden nach dem Umlösen aus Me-An 290 mg «G» vom Smp. 172–181° erhalten. Davon wurden 240 mg nochmals aus Me-An umkristallisiert: 173 mg vom Smp. 176–180°.

Die Eindampfrückstände der Fr. 35–36 gaben aus Me-Ä 160 mg fast reines *Glykosid B* (**23**) (etwas «G»-haltig). Die Fr. 37–44 wurden vereinigt, im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus Me-Ä kristallisiert: 1,98 g reines Glykosid B vom Smp. 260–265°. – Aus den Fr. 45–48 konnten noch weitere 51 mg fast reines B (etwas «C»-haltig) gewonnen werden.

Die vereinigten Fr.-Rückstände 50–61 gaben aus Chf-Me 709 mg *Glykosid «C»* (**30**) vom Smp. 249–260°, das im DC nur *einen* Fleck gab. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus Me-Chf und wenig Ä fiel der Smp. auf 230–245°.

Die Eindampfrückstände der Fr. 83–90 wurden in Me gelöst, mit An und etwas Ä versetzt. Dabei schied sich das *Glykosid E* (**44**) amorph aus (432 mg). Durch Umlösen aus dem gleichen Lösungsmittelgemisch wurden erhalten: 186 mg Kristalle vom Smp. 243–250° sowie 134 mg vom Smp. 255–259° und noch weitere 35 mg krist. einheitliches Glykosid E.

Aus den Fr. 117–120 liessen sich 48 mg des schwerlöslichen *Glykosids D* (**40**) gewinnen, die nach DC fast einheitlich waren. (Weitere 12 mg D waren etwas stärker verunreinigt.) Einmaliges

Umlösen der 48 mg aus Chf-Me-Ä gab 21 mg Glykosid D vom Smp. 278–285°, das nach DC immer noch nicht ganz einheitlich war.

Der nach Eindampfen der Fr. 122–133 erhaltene Rückstand gab aus Chf-Me-An-Ä 33 mg einer gelben, amorphen Substanz, die im UV. stark blau fluoreszierte und nach DC nicht ganz einheitlich war. Durch Umlösen aus Me-W liessen sich daraus 7 mg des *Glykosids M* (**55**) vom Smp. 233–236° und weitere 5 mg vom Smp. 229–231° gewinnen. Beide Kristallisate zeigten im DC [Chf-Me-(3:1)] noch einen ganz schwachen Schatten eines unpolareren Stoffes.

Zur Gewinnung des *Glykosids K* (**52**) wurden die ML des Glykosids «G» vereinigt und verseift. Beispiel: 181 mg ML von «G» wurden in 5 ml Me gelöst, mit 1,5 ml 10-proz. NH_3-Lösung versetzt und 4 Tage bei 37° stehengelassen. Nach Verdampfen des Me im Vakuum wurde die verbliebene wässerige Lösung mit Chf-Alk-(4:1) ausgeschüttelt, die organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand gab im DC (MekW) 2 Hauptflecke, die in ihren Rf-Werten den Glykosiden «G» und E (= Desacetylprodukt des Glykosids G!) entsprachen. Das rohe Glykosidgemisch wurde über eine mit EW bereitete Säule von 90 g SiO_2-W (75 g SiO_2+ 15 ml W) verteilt; Fr. zu 15 ml, Durchlaufgeschwindigkeit 0,5 ml pro Min. Die Fr. 1–97 gaben nach dem Eindampfen 17 mg Rückstand, der nach DC (MekW) unpolarere Stoffe als das Glykosid K (siehe gleich nachfolgend) enthielt. Die Fr. 98–305 (98–140 mit 0,5% Me, 141–239 mit 1% Me, 240–305 mit 3% Me) gaben total 95 mg Eindampfrückstand, der nach DC das *Glykosid K* und polarere Stoffe enthielt. Die 95 mg wurden in Me-An aufgenommen und gaben Kristallfraktionen (total 20 mg), die nach DC [MekW und E-Me-(9:1)] 2 mg einheitliches *Glykosid K* (**52**) darstellten und bei 260–264° schmolzen, sowie weitere 9 mg nach DC fast einheitliches und zudem schwach gelb gefärbtes Glykosid K. Die ersten Kristallfraktionen (20 mg) wurden vereinigt und aus Me-An-Ä umgelöst: 6 mg nach DC einheitliches Glykosid K vom Smp. 247–253°. – Die letzten Eluate (Fr. 306–372 mit 5% Me) gaben noch 51 mg Substanz, die u.a. das *Glykosid E* enthielten. Sie wurden verworfen.

2. Auftrennung der Monoside und Aglykone nach Fermentierung

2.1. *Monoside «a»* (***15***) *und «c»* (***34***) *aus AK I.* 40 g AK I wurden in 340 ml Me, 2248 ml An und 8562 ml W unter Erwärmen gelöst. Die abgekühlte, leicht trübe Lösung wurde mit 4 g Fermentpräparat I, in 100 ml W gelöst, und 5 ml To versetzt und 40 Tage bei 37° stehengelassen (pH zu Beginn 5,4 ,am Ende 4,3). Im DC (MekW) war nach dieser Zeit kein AK I mehr nachweisbar. Die Fermentierungslösung wurde hierauf 5mal mit je 1,5 l Chf ausgeschüttelt, dieses mit W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft: 30 g Schaum, der nach DC [E-Pe-(4:1)] zur Hauptsache die Monoside «a» und «c» enthielt. Dieses Monosidgemisch (30 g) wurde in 2 Portionen an jeweils 350 g SiO_2 chromatographiert; Fr. zu 400 ml. Fr. 1–29 [Bz-Chf-(1:5), Chf und Chf-Me-(99:1)] gaben 220 mg Eindampfrückstände, die verworfen wurden. Die Fr. 30–33 [Chf-Me-(49:1)] enthielten 1,4 g Substanz: *Monosid «c»* (+ wenig unpolarere Substanzen), die Fr. 34–39 [Chf-Me(49:1)] gaben 4,35 g Gemisch der Monoside «a» und «c», die Fr. 40–56 [Chf-Me-(49:1) und -(24:1)] 7,65 g *Monosid «a»*, das wenig Monosid «c» enthielt. Die späteren Fr. mit 10% Me gaben 940 mg Substanz (verworfen).

2.2. *Auftrennung des Monosids «a» in Monosid* a_1 (***16***) *und Monosid* a_2 (***18***). 6 g Monosid «a» (mit wenig Monosid «c») wurden in 500 ml Chf unter Erwärmen gelöst und noch warm (35–40°) auf eine Säule von 300 g SiO_2 gegeben; Fr. zu 300 ml. Die Fr. 1–9 (Chf) und 10–31 (Chf mit 1% Me) enthielten keine Substanz. Die Fr. 32–52 (Chf mit 1,5% Me) gaben total 40 mg Eindampfrückstände (verworfen). Aus den Fr. 53–59 (Chf mit 2% Me) wurden 570 mg eines Gemisches der Monoside «a» und «c» erhalten. Die Fr. 60–89 (Chf mit 2–3% Me) enthielten 4,9 g; aus Me 3,4 g feine Nädelchen des *Monosids «a»* vom Smp. 236–240°. Im DC [E-Pe-(4:1)] nur *ein* Fleck; im $AgNO_3$-DC [Mek-Chf-Pe-(70:15:15)] neben dem Hauptfleck noch ein schwacher Fleck mit kleinerem Rf-Wert.

980 mg *Monosid «a»* wurden in 100 ml Chf-Isop-(19:1) gelöst und auf eine mit Chf-Isop-(19:1) bereitete $AgNO_3$-SiO_2-Säule von 500 g gebracht. Fr. zu 50 ml je 4 Std. Die Fr. 1–59 enthielten 38 mg Aglykongemisch. Fr. 60–86 gaben 770 mg, die nach $AgNO_3$-DC [Mek-Chf-Pe-(70:15:15)] nur aus *Monosid* a_1 (**16**) und einer Spur Uzarigenin und Xysmalogenin bestanden. Aus Me-Ä 590 mg feine Prismen vom Doppel-Smp. 140–160°/205–220° bzw. 232–235°. Nach $AgNO_3$-DC völlig einheitlich. – Die Fr. 87–90 gaben 33 mg Monosidgemisch + Aglykone. Aus den Fr. 91–109 wurden 144 mg *Monosid* a_2 (**18**) gewonnen, das wenig Monosid a_1 enthielt. 3maliges Umlösen aus Chf gab

feine Prismen vom Smp. 226–231° (nach $AgNO_3$-DC noch etwas Monosid a_1 enthaltend). – 115 mg Monosid a_2 wurden in wenig Chf-Me-(4:1) gelöst, mit SiO_2 verrieben, dieses im Vakuum getrocknet und auf eine Säule von 50 g $AgNO_3$-SiO_2 (mit Chf-Isop-(19:1) bereitet) gegeben. Fr. zu 10 ml je 30 Min. Die Fr. 1–80 gaben 9 mg Aglykongemisch (Uzarigenin und Xysmalogenin), die Fr. 81–92 11 mg (Monoside $a_1 + a_2$ + Aglykone), die Fr. 93–195 enthielten 95 mg *Monosid* a_2. Aus Chf-Me 50 mg feine Prismen vom Smp. 228–232°.

2.3. *Auftrennung des Monosids «c» in die Monoside* c_1 (**35**) *und* c_2 (**37**). 1,1 g Monosid «c» wurden in 100 ml Chf-Isop-(19:1) gelöst und auf eine mit Chf-Isop-(19:1) bereitete $AgNO_3$-SiO_2-Säule von 500 g gebracht. Fr. zu 100 ml je 3 Std. Die Fr. 1–43 gaben 135 mg Substanz (Aglykone + wenig Monosid b), die Fr. 44–47 15 mg Rückstand (Aglykone + Monosid c_1), die Fr. 48–59 576 mg Monosid c_1 (enthielt wenig Aglykone). Die Fr. 60–66 gaben 70 mg Monosid c_1, das wenig Monosid c_2 (und Spur Aglykon) enthielt und die Fr. 67–97 110 mg des Monosids c_2 (+ wenig Monosid c_1 und Aglykon).

Die obigen 576 mg des Monosids c_1 wurden aus An-Ä kristallisiert: 328 mg *Monosid* c_1 (**35**) als feine Nädelchen, Smp. 217–225°. Nach $AgNO_3$-DC [Mek-Chf-Pe-(70:15:15)] einheitlich.

Die 110 mg des Monosids c_2 wurden noch 2mal über 50 g $AgNO_3$-SiO_2 wie oben verteilt. Die Fr., die nach $AgNO_3$-DC das Monosid c_2 enthielten, wurden nochmals zur Entfernung der Aglykone über SiO_2 chromatographiert. Das so erhaltene *Monosid* c_2 (**37**) gab, aus Me-Ä kristallisiert, 33 mg feine Nädelchen vom Smp. 231–236°, die gemäss $AgNO_3$-DC nur noch Spuren von **35** enthielten.

2.4. *Monoside und Aglykone aus ML von AK I.* 120 g ML von AK I wurden, wie unter 2.1. beschrieben, mit 4 g Fermentpräparat II 10 Tage bei 37° stehengelassen. Die Aufarbeitung gab 67 g Monosidgemisch, das in Portionen chromatographisch aufgetrennt wurde. – Beispiel: 15 g Monosidgemisch wurden in Chf-Bz-(4:1) gelöst und auf eine mit Chf-Bz-(4:1) bereitete Säule von 350 g SiO_2 gegeben. Fr. zu 400 ml. Die Fr. 1–10 [Chf-Bz-(4:1)] gaben 742 mg Gemisch (nicht untersucht); die Fr. 11–30 (Chf) 170 mg Substanz «HF1», die viel Nebenprodukte enthielt, die Fr. 31–38 (Chf mit 1% Me) 142 mg Substanz «HF2» (+ «HF1» und Nebenprodukte), die Fr. 39–42 (Chf mit 1,5% Me) 73 mg Substanz HF3 (**65**) (+ «HF2» + Digitoxigenin + Nebenprodukte), die Fr. 43–50 (Chf mit 2% Me) 590 mg Digitoxigenin (+ Nebenprodukte), die Fr. 51–57 240 mg Uzarigenin (+ Nebenprodukte), die Fr. 58–59 24 mg Substanz HF4 (**67**) (+ Uzarigenin + Nebenprodukte), die Fr. 60–65 70 mg Substanz HF5 (**68**) (+ Nebenprodukte), die Fr. 66–74 (Chf + 3% Me) 540 mg Monosid b (+ Nebenprodukte), die Fr. 75–100 3,7 g Monosid b, die Fr. 101–117 (Chf mit 4% Me) 1,64 g der Monoside b und «e», die Fr. 118–151 (Chf mit 4–7,5% Me) 2,8 g Gemische der Monoside b, «c», g, k (mit wenig h und f [1]) und die Fr. 152–164 (Chf mit 10–15% Me) 1,65 g Monosid e (+ Nebenprodukte).

Aus den oben erwähnten 67 g des Gemisches der Monoside wurden insgesamt erhalten (jeweils aus An kristallisiert): 60 mg *Substanz «HF1»* (feine Nädelchen) vom Smp. 188–192°, 90 mg *Substanz «HF2»* (Nädelchen) vom Smp. 217–252°, 30 mg *Substanz HF3* (Nädelchen) vom Smp. 215–236° (= γ-Digiprogenin), 7 mg *Substanz HF4* (Nädelchen) vom Smp. 186–196° und 13 mg *Substanz HF5* (Nädelchen) vom Smp. 230–241°.

6,1 g Monosidgemisch, das die Monoside b, «c», g und k sowie wenig h und f enthielt, wurden über eine mit Chf bereitete SiO_2-Säule von 350 g chromatographiert. Fr. zu 250 ml, je 8 Std. Die Fr. 1–5 gaben keinen Eindampfrückstand. Die Fr. 6–21 (Chf mit 1% Me) enthielten 290 mg Gemische der Monoside «c», g, f, h, die nicht weiter untersucht wurden. Die Fr. 27–34 (Chf mit 1,5% Me) enthielten 1070 mg der Monoside g und k, die Fr. 35–38 1430 mg der Monoside g und k (+ etwas Monosid «a»), die Fr. 39–63 (Chf mit 1,5–2% Me) 1 g Gemisch der Monoside g, k, l, m (+ wenig f, h und e), die Fr. 64–69 735 mg Gemisch der Monoside l, m, e (+ wenig f und h) und die Fr. 70–89 (Chf mit 4–8% Me) 1,37 g Gemische, die nicht mehr untersucht wurden. – Die Fr. 27–34 gaben aus An-Ä 167 mg feine Nädelchen des *Monosids k* (**53**) vom Smp. 171–190° [nach DC (MekW und E-Me-(99:1) noch etwas Monosid g enthaltend]. Aus den Fr. 35–38 wurden durch mehrmaliges Umkristallisieren aus An-Ä 850 mg angereichertes *Monosid g* erhalten. Die Fr. 64–69 gaben nach 2maligem Umkristallisieren aus An-Ä 200 mg Kristallkröner, die nach DC [E-Me-(99:1)] die Monoside m und l enthielten.

Die 200 mg Gemisch der Monoside m und l wurden, in E-Me-(99:1) gelöst, auf eine Säule von 100 g SiO_2 (mit E-Me-(99:1) bereitet) gegeben. Fr. zu 18 ml je 30 Min. Die Fr. 1–30 wurden verworfen. Die Fr. 31–39 gaben 34 mg rohes *Monosid l* (**59**). Aus An-Ä 25 mg Kristallpulver vom Smp. 206–210°. Nach DC [E-Me-(99:1)] einheitlich. Aus ML von l- und m-haltigen Fraktionsrück-

ständen der obigen Verteilungen wurden durch erneute Chromatographie noch 68 mg reines *Monosid l* vom Smp. 205–209° erhalten. Die Fr. 40–49 gaben 11 mg Gemisch (l+m). Die Fr. 50–80 enthielten 143 mg rohes *Monosid m* (**57**). Aus Me-Ä 105 mg Prismen vom Smp. 247-252° (Sintern ab 243°). Nach DC einheitlich.

3. Charakterisierung und chemische Untersuchung der genuinen Glykoside

3.1. *Glykosid «A»* (**1**) = *Uzarigenin-canarobiosid* (**3**) + *wenig Xysmalogenin-canarobiosid* (**4**): Smp. 294–304°, $[\alpha]_D^{23} = -51{,}3° \pm 2°$ (Py), KEDDE- und Xanthydrol-Reaktion positiv. Im $AgNO_3$-DC [Chf-Me-(85:15)] erschien neben dem Hauptfleck ein sehr schwacher Fleck einer polareren Substanz, deren Rf-Wert demjenigen von Xysmalogenin-glucosido-canarosid (**4**) entsprach. Die rohe *Acetylverbindung* **2** (durch Erwärmen in Py-Ac_2O auf 80–90° während 2 Std. bereitet) wurde an SiO_2 chromatographiert. Aus Me-E Kristalle vom Smp. 213–218°. Nach dem Umlösen aus An-Ä, zu Rosetten vereinigte Blättchen vom Smp. 214–220°; $[\alpha]_D^{23} = -24{,}6° \pm 2°$ (Me).

3.1.1. *Enzymatische Spaltung: Monosid «a»* (**15**). 200 mg Glykosid «A» wurden in 5 ml Me, 30 ml An und 65 ml W in der Wärme gelöst. Die schwach trübe Lösung wurde mit der Lösung von 10 mg Fermentpräparat I in 2 ml W und mit 3 Tr To versetzt, 7 Tage bei 37° stehengelassen und dann im Vakuum auf etwa 20 ml eingedampft. Die wässerige Lösung wurde erschöpfend mit Chf, das total 131 mg rohes *Monosid «a»* aufnahm, und dann noch mit Chf-Alk-(4:1) ausgeschüttelt, wobei 35 mg unverändertes Glykosid «A» zurückgewonnen werden konnte. Das rohe Monosid «a» gab aus Chf 112 mg feine Nadeln vom Doppel-Smp. 115–120°/212–230°; nach dem Umlösen aus Me-Ä 96 mg Prismen vom Smp. 235–241°. Nach DC [E-Pe-(4:1) und Chf-Me-(95:5)] einheitlich und identisch mit dem früher [1] beschriebenen Monosid a; dieses schmolz jetzt bei 225–231° (früher 241–244°); Misch-Smp. 233–239°. Im $AgNO_3$-DC [Mek-Chf-Pe-(70:15:15)] war noch neben dem Fleck des *Monosids* a_1 (siehe oben unter 2.2.) ein sehr schwacher Fleck der polareren *Substanz* a_2 sichtbar. Das früher [1] erhaltene Monosid a zeigte im $AgNO_3$-DC dasselbe Verhalten. – Die mit Chf und Chf-Alk-(4:1) extrahierte wässerige Phase der Fermentierung wurde im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand enthielt nach DC (An) an Zuckern nur *Glucose*.

3.1.2. *Saure Hydrolyse: Uzarigenin* (**5**) (*etwas* (**9**)*-haltig*) *und Canarobiose* (**11**). 255 mg Glykosid «A» wurden in 20 ml Me und 20 ml 0,1 N H_2SO_4 40 Min. auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt, wobei 48 mg des eingesetzten Glykosids ungelöst blieben. Diese wurden nochmals in 5 ml Me und 5 ml 0,1 N H_2SO_4 50 Min. auf dem Dampfbad erhitzt, wobei völlige Lösung und Spaltung des Glykosids erfolgte. Die beiden Hydrolyselösungen wurden vereinigt, im Vakuum vom Me befreit, nochmals 10 Min. auf dem Dampfbad erhitzt und nach dem Erkalten erschöpfend mit Chf extrahiert, das nach Waschen mit W, Trocknen über Sulfat, Filtrieren und Eindampfen 142 mg rohes Genin zurückliess. Dieses wurde an 4 g SiO_2 aufgeteilt: 38 mg rohes *β-Anhydro-uzarigenin* (**7**)[25]), das nach dem Umlösen aus Me 20 mg Prismen vom Smp. 255–264° und $[\alpha]_D^{24} = -27{,}7° \pm 2°$ (Chf) lieferte, und 78 mg *Uzarigenin* (**5**) (nach $AgNO_3$-DC etwas **9** enthaltend) vom Smp. 228–242°. Die wässerige, mit Chf ausgeschüttelte, saure Lösung gab im DC (An) 5 Flecke folgender Zucker und Methylglykoside (Reihenfolge entsprechend zunehmender Polarität): Canarose-methylglykosid (sehr schwach), Canarose (**20**) (schwach), Canarobiose-methylglykosid (**13**) (stärker), Canarobiose (**11**) (Hauptfleck) und Glucose (schwach). Zur Hydrolyse der Methylglykoside wurde nochmals 50 Min. auf dem Dampfbad erhitzt. Die noch heisse Zuckerlösung wurde mit einem Überschuss von frisch gefälltem und neutral gewaschenem $BaCO_3$ versetzt, kurz erwärmt und durch ein mit $BaCO_3$ gedichtetes Filter gesaugt. Das klare Filtrat wurde mit einer Spatelspitze $BaCO_3$ versetzt und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde in Me aufgenommen und die Lösung durch ein gehärtetes Filter filtriert. Eindampfen der klaren Lösung im Vakuum gab 105 mg Zuckersirup. Dieser wurde in wenig Me und An aufgenommen, wobei er kristallisierte: 88 mg dicke, nach DC (An) einheitliche Prismen vom Smp. 200–209°. Umlösen aus An, das wenig 95-proz. Me enthielt, gab 38 mg *Canarobiose* (**11**) vom Smp. 213–221°, 11 mg vom Smp. 217–223° und weitere 32 mg Kristalle, die zwischen 205 und 215° schmolzen; $[\alpha]_D^{25} = +5{,}3° \pm 2°$, bzw. $+12{,}1° \pm 2°$ nach 15 Std. (W).

Canarobiose-methylglykosid (**13**). 3 g AK I, das an SiO_2 chromatographiert worden war und nur die Glykoside «A» (**1**) und «C» (**30**) enthielt, wurden in 350 ml Me und 350 ml 0,1 N H_2SO_4

[25]) β-Anhydro-uzarigenin wurde nach Acetylierung mit authentischem 3-O-Acetyl-β-anhydro-uzarigenin im $AgNO_3$-DC identifiziert.

1 Std. auf dem Dampfbad rückfliessend erhitzt. Die anfangs trübe Lösung wurde nach 20 Min. klar. Aufarbeitung wie bei der Hydrolyse des Glykosids «A» beschrieben. Es wurden 1,67 g Aglykonanteil und 1,54 g Zuckersirup erhalten. Der Zuckersirup wurde in wenig Me aufgenommen, mit der gleichen Menge SiO_2 verrieben, dieses im Vakuum getrocknet und auf eine mit 75 g SiO_2 und Ä bereitete Säule gegeben. Die Fr. 1–18 (Ä + 10–25% «Mischung») (36 mg) wurden verworfen. Die Fr. 19–29 (Ä + 20% «Mischung») gaben 654 mg *Canarobiose-methylglykosid* (**13**). Aus Me-Ä 468 mg feine Nädelchen vom Smp. 194–198°. Umlösen aus Me gab 325 mg Kristalle vom Smp. 194–200°; $[\alpha]_D^{22} = +40{,}3° \pm 2°$ (in 1 Tr W gelöst und zu 1 ml Me ergänzt) bzw. $+27{,}9° \pm 2°$ (W). Die *Acetylverbindung* **14** von **13** gab aus Ä-Pe Blättchen vom Smp. 130–135°. Nach 2maligem Umlösen aus An-Ä Smp. 139–142°, nach DC [Chf-An-(9:1)] einheitlich; $[\alpha]_D^{23} = +45{,}5° \pm 2°$ (Chf). – Die Fr. 30–46 (Ä + 30% «Mischung») gaben 484 mg Zuckersirup. Nach DC (An) **13** und *Canarobiose* (**11**). Die weiteren Fr. enthielten zur Hauptsache *Digilanidobiose* (**29**) sowie dessen Methylglykosid und wurden verworfen. – Das Gemisch von **13** und **11** wurde in 40 ml Me gelöst, mit 0,135 ml konz. H_2SO_4 in 10 ml W versetzt und 1 Std. auf dem Dampfbad rückfliessend erhitzt. Aufarbeitung wie unter Hydrolyse des Glykosids «A» beschrieben. Der erhaltene rohe Zuckersirup wurde wie oben chromatographiert und gab nochmals einheitliches **13**.

Canarobiose (***11***) *aus Canarobiose-methylglykosid* (***13***). 900 mg **13** (Kristalle und nach DC einheitliche ML) wurden in 5 ml W gelöst, mit 8 ml 0,1 N H_2SO_4 versetzt und 1 Std. auf dem Dampfbad rückfliessend erhitzt. Die Aufarbeitung gab 850 mg Rohzuckersirup, nach DC (An) zur Hauptsache Canarobiose (**11**) neben wenig Canarose (**20**). Der rohe Zuckersirup wurde in 0,4 ml W gelöst, mit 1 ml An und hierauf tropfenweise mit weiterem An versetzt, wobei spontan Kristallisation in Quadern einsetzte: 510 mg **11** vom Smp. 212–214°; nach DC (An) einheitlich. Umlösen aus 1 ml W und 1,5 ml An gab nach 2-tägigem Stehenlassen bei –10° 263 mg Kristalle vom Smp. 215–218°. – *Acetylverbindung* **12**: 100 mg **11** wurden in 3 ml Py und 3 ml Ac_2O 14 Std. bei 37° acetyliert. Nach Aufarbeitung 186 mg rohes Acetylierungsprodukt, das über 5 g SiO_2 chromatographiert wurde. Die Fr. mit [Bz-Chf-(7:3)] gaben 126 mg, die nach DC [Chf-An-(9:1)] fast einheitlich waren. Aus Ä-Pe 82 mg Nädelchen vom Smp. 135–165°, nach Umlösen aus An-Ä-Pe Smp. 166–175°; $[\alpha]_D^{23} = -1{,}3° \pm 2°$ (Chf). Nach DC einheitlich. – *Enzymatische Spaltung:* 1 mg Canarobiose in 0,5 ml W gelöst, mit 0,1 mg Fermentpräparat I versetzt, gab nach 17 Std. im DC (An) 2 Flecke (graublau und gelb) mit den Rf-Werten der *Canarose* (**20**) und der *Glucose*.

Canarose (***20***) *aus Monosid «a»* (***15***). 2 g Monosid «a» (nach DC nur die Monoside a_1 und a_2 enthaltend) wurden in 40 ml An gelöst, mit 40 ml 0,1 N H_2SO_4 versetzt, wobei ein Teil der Substanz wieder ausfiel, und 1 Std. rückfliessend auf dem Dampfbad erhitzt (klare Lösung bereits nach 15 Min.). Die Aufarbeitung gab 1,43 g rohen Geninanteil und 560 mg rohen Zuckersirup. Dieser wurde in wenig An aufgenommen, mit 2 g SiO_2 verrieben, dieses im Vakuum vom An befreit und auf eine mit Ä bereitete Säule von 25 g SiO_2 gebracht. Die ersten Fr. mit Ä wurden verworfen. Die mit Ä (+1–2% «Mischung») gewonnenen Fr. gaben 480 mg Eindampfrückstand (nach DC An-Chf-(2:1) einheitlich), der 12 Std. im Vakuumexsikkator bei 20° getrocknet wurde. Aufnehmen in wenig trockenem An, Versetzen mit trockenem Ä und Animpfen mit krist. Canarose gab nach 6 Std. (unter weiterem Versetzen mit einem An-Ä-Gemisch) 40 mg Nädelchen vom Smp. 87–96°. Die ML wurden getrocknet, mit trockenem Mek aufgenommen und mit Ä versetzt: 40 mg Nädelchen vom Smp. 92–99°. – *2,4-Dinitrophenylhydrazon* (***21***) *von* ***20***. 200 mg reine Canarose (als Sirup) wurden in 6 ml Alk gelöst, mit der Lösung von 240 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 24 ml Alk und mit 0,5 ml AcOH versetzt. Nach Erhitzen während $1^1/_2$ Std. auf dem Dampfbad wurde das Lösungsmittel bei 45° im Vakuum abdestilliert. Der erhaltene Rückstand wurde in 2,4 ml Alk gelöst, mit 4,8 ml Ä und 12 ml Pn versetzt und bei 20° stehengelassen: 41 mg gelbe Blättchen vom Smp. 132–134° und weitere 30 mg Kristalle vom Smp. 128–134°. Nach DC [Chf-An-(2:1)] waren beide Kristallfraktionen einheitlich. Die ML wurden an 10 g SiO_2 chromatographiert: die Fr. (mit Ä + 0,5% «Mischung») gaben noch weitere 25 mg rohes Zuckerhydrazon, aus denen noch 10 mg einheitliche Kristalle vom Smp. 129–132° gewonnen werden konnten. – *p′-Nitro-diphenyl-p-sulfonylhydrazon* (***22***) *von* ***20***. 30 mg reine Canarose (als Sirup) wurden in 1 ml Acetonitril gelöst, mit 40 mg *p′*-Nitro-diphenyl-*p*-sulfonylhydrazid [12] versetzt und 15 Min. auf 70–80° erwärmt. Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen des öligen Rückstandes in wenig Me und Zufügen von etwas Chf gab 37 mg farbloses Kristallpulver vom Smp. 107–114° [nach DC (An-Chf-(2:1) einheitlich!]. Umlösen aus 2 Tr Me, 5 Tr Chf und 5 Tr Ä gab 31 mg Kristalle vom Smp. 105–113° (nach DC einheitlich). Nochmaliges Umlösen aus demselben Lösungsmittelgemisch gab 27 mg leicht gelb ge-

färbte Kristalle vom Smp. 103–113° (nach DC neben Hauptsubstanz geringe Menge eines polareren Zersetzungsproduktes!).

3.2. *Glykosid B = Digitoxigenin-glucosido-digitoxosid* (= *Gluco-evatromonosid* (***23***). Nach nochmaligem Umkristallisieren aus Me-An kleine weisse Kristalle, Smp. 262–266°, $[\alpha]_D^{25} = -1{,}0° \pm 1°$ (Me), KEDDE- und Xanthydrol-Reaktion positiv; Misch-Smp. mit Gluco-evatromonosid (***23***)[12] vom Smp. 263–266°: 260–264°; im DC [MekW und Chf-Me-(9:1)] ein einziger Fleck. – *Acetylverbindung* (***24***): 239 mg Glykosid B wurden in 4 ml Py gelöst, die Lösung mit 2 ml Ac_2O versetzt, 16 Std. bei 37° stehengelassen und noch 30 Min. auf 80° erwärmt. Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt wurde an 8 g SiO_2 chromatographiert. Die Hauptmenge der Acetylverbindung liess sich mit Chf und Chf-Me-(99:1) eluieren und gab nach 2maligem Umkristallisieren aus An-Ä 150 mg rechteckige Plättchen vom Smp. 235–237°; $[\alpha]_D^{23} = +17{,}3° \pm 1°$ (Chf). (Enthält nach DC [Chf-Me-(49:1)] noch sehr wenig einer polareren Substanz (teilweise acetyliertes Glykosid B)).

3.2.1. *Enzymatische Spaltung: Digitoxigenin-digitoxosid = Monosid b* (***25***) [1] *und Glucose.* 103 mg Glykosid B wurden in 2 ml Me, 5 ml An und 30 ml W gelöst, mit 5 mg Fermentpräparat I in einigen Tr W und mit 3 Tr To versetzt und 2 Tage bei 37° stehengelassen. Bei der Aufarbeitung, wie unter 3.1.1. beschrieben, wurden 63 mg Monosid b und 40 mg rohe Glucose erhalten. Das *Monosid b* gab aus An-Ä 37 mg kleine prismatische Kristalle vom Smp. 202–207°, die nach DC [Chf-Me-(97:3) und E-Pe-(4:1)] einheitlich waren. Die Mischprobe mit Monosid b [1] vom Smp. 205–210° schmolz ohne Depression und gab im DC nur *einen* Fleck. (Die *Acetylverbindung* **26** schmolz bei 212–217°; die Mischprobe mit der Acetylverbindung des Monosids b [1] schmolz ohne Depression und gab im DC [Chf-Me-(97:3)] nur *einen* Fleck.) – Die rohe *Glucose* wurde durch wiederholtes Aufnehmen in Me, Blankfiltrieren und Eindampfen im Vakuum gereinigt, in 2 Tr Me gelöst und mehrere Tage bei −10° stehengelassen, wobei sich Kristalle vom Smp. 142–146° abschieden; die Mischprobe mit Glucose (Smp. 143–148°) schmolz bei 142–147° und gab im DC (An) nur *einen* Fleck.

3.2.2. *Saure Hydrolyse: Digitoxigenin* (***27***) *und Digilanidobiose* (***29***). 160 mg Glykosid B wurden in 5 ml Me gelöst, mit 5 ml 0,1 N H_2SO_4 versetzt und 40 Min. auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Nach Verdampfen des Me im Vakuum wurde die wässerige Lösung erschöpfend mit Chf ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge gaben nach üblicher Aufarbeitung 85 mg rohes *Digitoxigenin* und daraus nach 2maligem Umlösen 30 mg Prismen vom Smp. 248–253°. – Die wässerige, mit Chf ausgeschüttelte saure Lösung der obigen Hydrolyse wurde mit frisch gefälltem $BaCO_3$ versetzt, kurz erhitzt und abgenutscht. Das Filtrat wurde mit einer Spatelspitze frisch gefälltem $BaCO_3$ versetzt und im Vakuum völlig eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig Me gelöst, blankfiltriert, im Vakuum bis zum Sirup eingeengt und mit An-Ä versetzt, wobei allmählich Kristallisation einsetzte. Umlösen aus Me ergab 22 mg Prismen vom Smp. 211–217°, die nach DC (An) einheitlich und identisch mit *Digilanidobiose* waren; Misch-Smp. mit authentischer Digilanidobiose (Smp. 219–225°): 212–219°.

3.3. *Glykosid «C»* (***30***) = *Uzarigenin-digilanidobiosid* (***32***) + *wenig Xysmalogenin-digilanidobiosid* (***33***): Smp. 230–245°, $[\alpha]_D^{22} = -14{,}9° \pm 2°$ (Me), KEDDE- und Xanthydrol-Reaktion positiv. – *Acetylverbindung* **31**: 100 mg Glykosid «C» wurden in 2 ml Py gelöst, mit 1 ml Ac_2O versetzt und $1^1/_2$ Std. auf 80° erwärmt. Nach üblicher Aufarbeitung 130 mg rohe Acetylverbindung, die im DC [E-Pe-(4:1) und Chf-Me-(24:1)] neben einem Hauptfleck noch einen sehr schwachen Fleck einer polareren Substanz gab. Aus An-Ä 94 mg Prismen, die sich im DC wie das Rohprodukt verhielten. Nach 2maliger chromatographischer Auftrennung an 2 g SiO_2 waren die aus den Eluaten mit Chf-Me-(99:1) gewonnenen Eindampfrückstände (37 mg) im DC einheitlich. Aus An-Ä 28 mg farblose Prismen vom Smp. 214–217°; $[\alpha]_D^{23} = +15{,}4° \pm 2°$ (Chf).

3.3.1. *Enzymatische Spaltung: Monosid «c»* (***34***) *und Glucose:* 50 mg Glykosid «C» wurden in 1,25 ml Me, 7,5 ml An und 16,25 ml W, das 3 mg Fermentpräparat I enthielt, gelöst, mit 2 Tr To versetzt und 3 Tage bei 37° stehengelassen. Nach Zugabe weiterer 3 mg des Enzympräparates wurde nochmals 3 Tage bei 37° stehengelassen. Hierauf wurde die Lösung im Vakuum auf etwa 15 ml konzentriert, mehrmals mit Chf ausgeschüttelt, dieses mit W gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand (38 mg) gab aus An-Ä 20 mg feine Nadeln vom Smp. 221–230°: *Monosid «c»* [1]. Die mit Chf ausgeschüttelte wässerige Phase wurde im Vakuum völlig verdampft. Der Rückstand enthielt nach DC (An) an Zuckern nur *Glucose*.

3.3.2. *Saure Hydrolyse: Uzarigenin* (**5**) *(etwas* **9***-haltig) und Digilanidobiose* (**29**). Eine Lösung von 126 mg Glykosid «C» in 6 ml Me wurde mit 6 ml 0,1 N H_2SO_4 versetzt und 50 Min. unter Rückfluss auf dem Dampfbad erhitzt. Nach Abdampfen des Me im Vakuum wurde die wässerige Lösung mit Chf erschöpfend extrahiert, dieses mit W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft: 67 mg *rohes Uzarigenin*, das nach $AgNO_3$-DC [E-Chf-Me-(5:10:1)] noch etwas **9** und **7** enthielt. 2maliges Umlösen aus Me-Ä gab 32 mg farblose Prismen vom Smp. 226–248°, die noch etwas **9** enthielten. – Die wässerige, mit Chf erschöpfte Lösung wurde mit frisch gefälltem und neutralgewaschenem $BaCO_3$ versetzt, erwärmt und filtriert. Das neutrale Filtrat wurde mit einer kleinen Menge $BaCO_3$ versetzt, im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Me aufgenommen, blankfiltriert und im Vakuum konzentriert: 28 mg Kristalle vom Smp. 209–216°, die nach DC (An) identisch mit authentischer *Digilanidobiose* (Smp. 219–225°) waren; Misch-Smp. 211–220°.

3.4. *Glykosid D = Uzarigenin-glucosido-fucosid* (= *Cheirosid A* [23]) (**40**). Die aus Chf-Me-Ä gewonnenen leicht gelb gefärbten Kristallkörner vom Smp. 278–285° wurden in Chf-Me-(3:2) gelöst, die Lösung wurde mit etwas An versetzt und z.T. eingedampft, wobei sich ein flockiger Niederschlag bildete, der beim Abkühlen kristallin wurde. Durch Zusatz von Ä wurde die Kristallisation vervollständigt: feine weisse Nädelchen vom Smp. 290–295°; $[\alpha]_D^{23} = -22{,}6° \pm 2°$ (Py). KEDDE-Reaktion positiv, Xanthydrol-Reaktion negativ. Nach DC [Chf-Me-(4:1) und An-Me-(9:1)] einheitlich und identisch mit Cheirosid A [23] vom Smp. 287–294°, Misch.-Smp. 285–291°. – *Acetylverbindung* **41**: Durch Stehenlassen des Glykosids während 3 Tagen in Py-Ac_2O-(7:5) bei 37°. Aus An-Ä 10 mg zu Rosetten vereinigte lange Nädelchen vom Doppel-Smp. 154–165°/212–222°; $[\alpha]_D^{23} = +7{,}7° \pm 3°$ (Chf). Nach DC [Chf-Me-(24:1)] fast einheitlich (schwacher Nebenfleck einer unpolareren Substanz); Misch-Smp. mit authentischer Acetylverbindung von Cheirosid A[13]: 150–200°/217–237°.

3.4.1. *Enzymatische Spaltung.* Etwa 1 mg Glykosid D (**40**) wurde in Me-An-W gelöst, mit einer Spur Fermentpräparat I versetzt und 4 Tage bei 37° stehengelassen. Im DC [Chf-Me-(19:1)] war ein Fleck mit dem für *Uzarigenin* (**5**) typischen Rf-Wert (sowie Spuren von **40** auf der Startlinie) sichtbar. Nach Ausschütteln der wässerigen Lösung mit Chf gab diese im DC (An) die für *Glucose* und *Fucose* typischen Flecke. – Nach enzymatischer Spaltung mit Strophanthobiase (7 Tage bei 37°) liessen sich im DC (MekW) zur Hauptsache *Uzarigenin-fucosid* (**43**) (= Desglucocheirosid A [23]) neben unverändertem Glykosid D und wenig Uzarigenin nachweisen.

3.5. *Glykosid E = Digitoxigenin-glucosido-glucomethylosid* (**44**). Das durch nochmaliges Umlösen aus Me-An-Ä erhaltene weisse Kristallpulver schmolz bei 255–261°; $[\alpha]_D^{23} = -4{,}0° \pm 2°$ (Me). KEDDE-Reaktion positiv, Xanthydrol-Reaktion negativ. Die Mischprobe mit authentischem **44** [25] gab im DC [MekW und Chf-Me-(8:1)] nur *einen* Fleck und schmolz bei 252–259°[14]. – *Die Acetylverbindung* **45** (durch Erhitzen in Py-Ac_2O-(10:7) während 3 Std. bei 90–80° bereitet) wurde an SiO_2 chromatographiert. Die mit Chf, das auf 10 ml 2 Tr Me enthielt, eluierte Substanz gab nach 2maligem Umlösen aus Me-Ä-Pe farblose Plättchen vom Smp. 165–174°, die nach DC [E-Chf-Bz-(70:15:20)] einheitlich waren; $[\alpha]_D^{23} = -23{,}7° \pm 2°$ (Chf).

3.5.1. *Enzymatische Spaltung: Monosid e* (**46**) [1]. 50 mg Glykosid E wurden in 0,4 ml Me, 1 ml An und 8,5 ml W gelöst, mit 3 mg Fermentpräparat I und 2 Tr To versetzt und 5 Std. bei 37° stehengelassen. Durch Ausschütteln mit Chf liessen sich 33 mg Substanz gewinnen, die nach DC [Chf-Me-(19:1)] neben dem Monosid e bereits Spuren von Digitoxigenin enthielten. Bei der Chromatographie an 1 g SiO_2 wurden mit Chf-Me (auf 5 ml Chf 12 Tr Me) 21 mg eluiert. Aus An-Ä 12 mg Plättchen vom Smp. 220–225°, die im DC [E-Pe-(85:15)] einheitlich waren und sich gleich wie das *Monosid e* [1] (das Präparat schmolz jetzt bei 195–205°/212–217°) verhielten; Misch-Smp. 203°/214–217°. – Die wässerige, mit Chf extrahierte Fermentierungslösung wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab im DC [An-Chf-(4:1)] einen starken Fleck (= *Glucose*) und einen schwachen Fleck (= *Glucomethylose*). Eine Probe des Glykosids E wurde wie oben aber 3 Tage (!) enzymatisch gespalten. Die Enzymlösung enthielt nach dieser Zeit praktisch neben den beiden erwähnten Zuckern nur noch *Digitoxigenin*, das durch Ausschütteln mit Chf isoliert wurde (aus An-Ä Prismen vom Smp. 240–249°).

3.6. *Glykosid «G» = Digitoxigenin-4'(?)-glucosido-2'-acetyl-glucomethylosid* (**48**)[26]*:* Smp. 176–180°, $[\alpha]_D^{23} = -10{,}3° \pm 1°$ (Me), KEDDE-Reaktion positiv, Xanthydrol-Reaktion negativ. –

[26]) Enthält stets wenig des Glykosids K (**52**).

Acetylverbindung **45**: 49 mg Glykosid «G» wurden in 1 ml Py und 0,7 ml Ac_2O $1^1/_2$ Std. bei 90° erhitzt. Die rohe Acetylverbindung enthielt nach DC [Chf-Me-(49:1) bzw. E-Chf-Bz-(7:2:1)] noch ein wenig einer unpolareren Substanz (= *Acetylverbindung des Glykosids K*, siehe weiter unten), die nach Chromatographie an SiO_2 und mehrmaligem Umkristallisieren fast völlig abgetrennt werden konnte. Die Acetylverbindung **45** gab aus Me-W rechteckige Blättchen vom Smp. 167–174°; $[\alpha]_D^{23} = -21{,}0° \pm 2°$ (Chf). Die Mischprobe mit der Acetylverbindung des Glykosids E (vom Smp. 165–174°) gab im DC [Chf-Me-(49:1) und E-Chf-Bz-(7:2:1)] einen einzigen Fleck und schmolz bei 168–176°.

3.6.1. *Enzymatische Spaltung: Monosid g* (***49***). 140 mg Glykosid «G» wurden in 1 ml Me gelöst, mit 4 ml An, 10 ml W und der Lösung von 10 mg des Fermentpräparates II in 5 ml W sowie 3 Tr To versetzt und 8 Std. bei 37° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei etwa 60° auf 1,5 ml konzentriert, 5mal mit Chf ausgeschüttelt und dieses über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft: 105 mg Rohprodukt, das aus An-Ä-Pe kristallisierte. Nach 2maligem Umlösen aus An-Ä-Pe 63 mg kleine Drusen des *Monosids g* vom Smp. 224–232°. Nach DC [Chf-Me-(95:5) und E-Me-(99:1)] einheitlich. IR.-Spektrum (in Chf): 2,79 und 2,91 μ (HO-Banden); 5,6 μ (Schulter) und 5,72 μ (Carbonylbanden); 6,12 μ (Schulter) und 6,17 μ (Doppelbindung); 8,0–8,3 μ (Ester). PR.-Spektrum siehe Fig. 1. Die Mischprobe mit dem früher [1] beschriebenen Monosid g (das Präparat schmolz jetzt bei 218–225°) gab im DC nur *einen* Fleck und schmolz bei 219–227°. Die ML gaben im DC neben dem Fleck des Monosids g noch einen Fleck des Desacetylproduktes von g = *Monosid e* (**46**), sowie einen Fleck der direkt unterhalb desjenigen des Monosids g lag: *Monosid k* (**53**). – *Acetylverbindung* **47** *von* ***49***: 24 mg Monosid g wurden in Py-Ac_2O-(10:7) $1^1/_2$ Std. bei 80° acetyliert. Die rohe Acetylverbindung (29 mg) gab aus An-Ä 16,5 mg glänzende Blättchen vom Smp. 240–248°, die nach DC [Chf-Me-(19:1)] einheitlich und identisch mit der Acetylverbindung **47** des Monosids e waren; Misch-Smp. mit authentischer Substanz (vom Smp. 232–246°) [1]: 243–249°.

3.7. *Glykosid J = Digitoxigenin-glucosid* (***50***). Umlösen aus Me gab flache Blättchen vom Smp. 245–250°; $[\alpha]_D^{23} = -5{,}0° \pm 2°$ (Chf). KEDDE-Reaktion positiv, Xanthydrol-Reaktion negativ. Die Mischprobe mit authentischem Digitoxigenin-glucosid [26][12] (Smp. 233–242°) schmolz bei 232–245° und gab im DC (MekW und Chf-Me-[9:1)] einen einzigen Fleck. – *Acetylverbindung* **51**: Das rohe Acetylierungsprodukt gab aus An-Ä-Pe feine Nädelchen vom Smp. 172–182°; $[\alpha]_D^{23} = -6{,}7° \pm 2°$ (Chf). Nach DC [Chf-Me-(49:1)] einheitlich.

3.7.1. *Enzymatische Spaltung.* 2 mg Glykosid J wurden in 0,1 ml An und 1 Tr Me gelöst, mit der Lösung von 0,1 mg Fermentpräparat I in 0,4 ml W versetzt und 7 Std. bei 37° stehengelassen. Nach dieser Zeit war nach DC [Chf-Me-(97:3)] die Spaltung vollständig. Der Chf-Extrakt gab im DC [Chf-Me-(24:1)] nur *einen* Fleck mit dem Rf-Wert des *Digitoxigenins*. Die wässerige Phase der enzymatischen Spaltung enthielt nach DC (An) an Zuckern nur *Glucose*.

3.8. *Glykosid K = Digitoxigenin-glucosido-canarosid* (***52***) *und Glykosid E* (***44***) *durch Verseifung von Glykosid «G»*. Die Lösung von 150 mg Glykosid «G» in 3,5 ml Me wurde mit 1,25 ml 2-proz. NH_3-Lösung versetzt und 10 Tage bei 37° stehengelassen. (Nach den ersten 5 Tagen war noch 0,75 ml 2-proz. NH_3-Lösung zugegeben worden.) Die Lösung wurde im Vakuum abgedampft, und der Rückstand (143 mg Schaum), in 0,5 ml Me, 10 ml EW und 12 Tr W gelöst, auf eine Säule von 44 g SiO_2-W (36 g SiO_2 + 8 ml W), die mit EW bereitet worden war, gegeben. Mit EW + 0,5% Me wurden zunächst 9 mg rohes *Glykosid K* und hierauf 4 mg Glykosidgemisch eluiert. KEDDE- und Xanthydrol-Reaktion waren positiv. Die Hauptmenge des aus Chf-Me kristallisierten **52** schmolz bei 247–253°. Eine kleine Kristallfraktion (2 mg) hatte den Smp. 260–264°; $[\alpha]_D^{25} = -20° \pm 7°$ (Py). Die *rohe Acetylverbindung von* **52** gab im DC [E-Bz-Chf-(12:5:3)] nur einen einzigen Fleck mit dem Rf-Wert der unpolareren Substanz, die in der Acetylverbindung des Glykosids G im DC nachgewiesen wurde (s. unter 3.6.). – Die Eindampfrückstände der mit EW + 3% Me gewonnenen Fr. wogen 110 mg. Aus Me-Ä 68 mg kugelige Kristalle vom Smp. 249–254°, die nach dem Umlösen aus Me-Ä bei 251–254° schmolzen; $[\alpha]_D^{21} = -5{,}8° \pm 2°$ (Me). Die Mischprobe mit dem *Glykosid E* (**44**) vom Smp. 255–261° (siehe oben) gab im DC [MekW und Chf-Me-(9:1)] einen einzigen Fleck und schmolz bei 254–262°.

3.8.1. *Enzymatische Spaltung: Monosid k* (***53***). Eine kleine Probe des Glykosids K wurde, wie beim Glykosid J beschrieben, mit Fermentpräparat I abgebaut. Der Chloroformauszug (= Monosidanteil) gab im DC [E-Me-(99:1)] einen Fleck mit dem Rf-Wert des Monosids k (siehe unten). Die wässerige Phase der Fermentierung enthielt nach DC (An) an Zuckern nur *Glucose*.

3.8.2. *Saure Hydrolyse* im Mikromaßstab in Me-0,1 N H_2SO_4-(1:1) gab als Geninanteil (= Chloroformauszug) nach DC (Chf-Me-(24:1)) *Digitoxigenin* (+ Spur Anhydro-digitoxigenin), als Zuckeranteil (wässerige Phase) im DC (An) *Canarobiose* (**11**) und wenig *Methylcanarobiosid* (**13**), sowie Spuren von Canarose und Glucose.

3.9. *Glykosid M = Gitoxigenin-glucosido-digitalosid (= Digitalinum verum)* (**55**): Körniges Kristallpulver vom Smp. 233–236°, KEDDE-Reaktion positiv, Xanthydrol-Reaktion negativ, $[\alpha]_D^{21} = +3{,}7° \pm 2°$ (Me). Die Mischprobe mit authentischem *Digitalinum verum* (Smp. 222–227°) schmolz bei 225–232° und gab im DC [Chf-Me-(4:1) und MekW] nur *einen* Fleck, der im UV. blau fluoreszierte. Die rohe *Acetylverbindung* **56** wurde durch Chromatographie an SiO_2 gereinigt. 2maliges Umlösen aus Me-Ä und An-Bz gab feine Nädelchen vom Smp. 151–172°; $[\alpha]_D^{22} = -16{,}5° \pm 2°$ (Chf). Die Mischprobe mit authentischem **56** (Smp. 173–180°) schmolz bei 152–180°/220–225° und gab im DC [E-Chf-Bz-(7:2:1) und Chf-Me-(97:3)] nur *einen* Fleck.

3.9.1. *Enzymatische Spaltung.* Eine im Mikromaßstab mit dem Fermentpräparat I während eines Monats behandelte Probe des Glykosids M blieb unverändert. Das Fermentpräparat II dagegen spaltete im Laufe dieser Zeit etwa 40% des Glykosids. Der Chf-Auszug gab im DC (MekW) 2 Flecke mit den Rf-Werten des *Strospesids* (**57**) bzw. des *Gitoxigenins*. Die wässerige Phase der Fermentierung enthielt nach DC (An) an Zuckern *Glucose* und etwas *Digitalose*.

4. Charakterisierung und chemische Untersuchung der nach Fermentierung gewonnenen Monoside und Aglykone

4.1. *Monosid a_1 = Uzarigenin-canarosid* (***16***): Smp. 232–235°, $[\alpha]_D^{22} = -24{,}1° \pm 2°$ (Me). – *Acetylverbindung* **17**: 70 mg Monosid a_1 wurden in 1,0 ml Py und 0,7 ml Ac_2O 16 Std. bei 37° stehengelassen. Das Rohprodukt (78 mg) gab aus Me-Ä 60 mg weisse Nädelchen vom Smp. 260–270°. Nach dem Umlösen aus Me-Ä Smp. 265–270°, $[\alpha]_D^{23} = -12{,}3° \pm 2°$ (Chf). Nach $AgNO_3$-DC [An-Pe-(3:7)] einheitlich. – *Saure Hydrolyse:* Eine Probe des Monosids a_1 wurde in An-0,1 N H_2SO_4-(1:1) 30 Min. auf 80° erhitzt. Der Chf-Teil enthielt nach $AgNO_3$-DC [Chf-E-Me-(10:5:1)] nur *Uzarigenin* (**5**), die wässerige Phase nach DC [An-Chf-(2:1)] nur *Canarose* (**20**).

4.2. *Monosid a_2 = Xysmalogenin-canarosid* (***18***): 229–234°, $[\alpha]_D^{22} = -25{,}8 \pm 2°$ (Me). – *Acetylverbindung* **19** (wie unter 4.1. bereitet). Aus Me-Ä weisse Nädelchen vom Smp. 264–270°, nach dem Umlösen aus Me-Ä Smp. 265–269°; $[\alpha]_D^{23} = -17{,}5° \pm 2°$ (Chf). Nach $AgNO_3$-DC [An-Pe-(3:7)] einheitlich. – *Saure Hydrolyse* (wie unter 4.1. beschrieben): Der Chf-Teil enthielt nach $AgNO_3$-DC [Chf-E-Me-(10:5:1)] nur *Xysmalogenin* (**9**) und die wässerige Phase nach DC [An-Chf-(2:1)] nur *Canarose* (**20**).

4.2.1. *Auftrennung des Geningemisches aus Monosid «a»* (***15***) *in Uzarigenin* (***5***) *und Xysmalogenin* (***9***). 820 mg Geningemisch aus **5** und **9** (erhalten durch milde saure Hydrolyse von «a»), gelöst in 50 ml Chf-Isop-(95:5), wurden auf eine Säule von 500 g $AgNO_3$-SiO_2, die mit Chf-Isop-(95:5) bereitet worden war, gegeben. Fr. zu 50 ml pro $1^1/_2$ Std. Die Fr. 1–19 (enthielten Anhydro-uzarigenin und Anhydro-xysmalogenin sowie Uzarigenin) wurden verworfen. Die Eindampfrückstände der Fr. 20–30 gaben aus Chf-Me-(4:1) 570 mg *Uzarigenin* in Prismen vom Smp. 227–240°, nach $AgNO_3$-DC [E-Chf-Me-(5:10:1)] einheitlich. – Fr. 31 war eine Misch-Fr. Die Eindampfrückstände der Fr. 32–48 gaben aus Chf-Me-(4:1) 60 mg Prismen vom Smp. 230–250°. Nach $AgNO_3$-DC einheitlich. Nach dem Umlösen aus Chf-Me-(4:1) 39 mg *Xysmalogenin* vom Smp. 223–246°; $[\alpha]_D^{22} = +16{,}7° \pm 2°$ (Me). Die aus einheitlichen ML von **9** bereitete *Acetylverbindung* **10** gab aus Me-Ä Nadeln vom Smp. 259–266° (Sintern bei 255°); $[\alpha]_D^{23} = -10{,}1° \pm 2°$ (Chf). Nach $AgNO_3$ DC [Chf-Me-(99:1)] einheitlich.

4.3. *Monosid c_1 = Uzarigenin-digitoxosid* (***35***). Das Monosid c_1 vom Smp. 217–225° wurde aus An-Ä umgelöst und schmolz dann bei 221–226°. Nach $AgNO_3$-DC [Mek-Chf-Pe-(70:15:15)] einheitlich; Misch-Smp. mit dem früher [1] beschriebenen Monosid c (Smp. 239–243°): 224–241°. – Die *saure Hydrolyse* im Mikromaßstab gab nach $AgNO_3$-DC [Chf-E-Me-(10:5:1)] *Uzarigenin* und nach DC [An-Chf-(2:1)] *Digitoxose*.

4.4. *Monosid c_2 = Xysmalogenin-digitoxosid* (***37***). Das Monosid c_2 vom Smp. 231–236° zeigte $[\alpha]_D^{22} = -15{,}7° \pm 2°$ (Me). – Die *Acetylverbindung* **38** gab aus Chf-Ä farblose Nädelchen vom Smp. 244–250°; nach dem Umlösen aus Me-Ä Smp. 242–250°; $[\alpha]_D^{20} = +6{,}6° \pm 2°$ (Chf). Enthält nach $AgNO_3$-DC [An-Pe-(3:7)] noch sehr wenig **36**. – *Saure Hydrolyse* im Mikromaßstab gab nach $AgNO_3$-DC [Chf-E-Me-(10:5:1)] *Xysmalogenin* und eine Spur Uzarigenin, sowie nach DC [An-Chf-(2:1)] *Digitoxose*.

4.5. *Monosid k = Digitoxigenin-canarosid* (**53**). Das bei der Chromatographie unter 2.4. erhaltene rohe, noch etwas Monosid g enthaltende Monosid k vom Smp. 171–190° wurde mehrmals aus An-Ä umgelöst und gab Nädelchen vom Doppel-Smp. 150–160°/182–192°. 70 mg Monosid k wurden in 1,5 ml Me gelöst, mit 0,6 ml 2-proz. NH_3-Lösung versetzt und 24 Std. bei 37° stehengelassen. Die Reaktionslösung gab im DC [Chf-Me-(9:1)] neben dem Fleck des Monosids k noch einen sehr schwachen Fleck vom gleichen Rf-Wert wie der des *Monosids e*. Nach Verdampfen des Me im Vakuum wurde mit etwas W versetzt und hierauf mit Chf ausgeschüttelt: 68 mg Rohprodukt, das an 2 g SiO_2 chromatographiert wurde. Die das *Monosid k* enthaltenden Fr. (Chf mit 20 Tr Me auf jeweils 10 ml) wurden vereinigt, eingedampft und der erhaltene Rückstand aus An umgelöst: feine Nädelchen vom Smp. 184–196° (manchmal aber auch vom Doppel-Smp. 145–150°/184–196°); $[\alpha]_D^{23} = -13{,}8° \pm 2°$ (Me). Nach DC [Chf-Me-(99:1)] rein. – *Acetylverbindung* **54**. 25 mg Monosid k wurden in Ac_2O-Py bei 80–90° 1 Std. acetyliert. Das rohe Acetylierungsprodukt (28 mg) wurde 2mal aus An-Ä-Pe umgelöst und gab zu Rosetten vereinigte Nadeln vom Smp. 216–226°. Nach nochmaligem Umlösen Smp. 205–217°; $[\alpha]_D^{22} = -9{,}9° \pm 2°$ (Chf). Nach DC [E-Pe-(4:1) und Chf-Me-(97:3)] einheitlich. – Milde *saure Hydrolyse* von 50 mg Monosid k gab 37 mg rohes *Digitoxigenin*; aus An Prismen vom Smp. 243–251°; nach DC [Chf-Me-(24:1)] rein. Aufarbeitung der wässerigen sauren Phase der Hydrolyse (wie unter 3.1. beschrieben) gab 13 mg rohen Zucker; nach DC [An-Chf-(2:1) und E-Me-(99:1), 3mal entwickelt!] reine *Canarose* (**20**). – *Canarose-2,4-dinitrophenylhydrazon* (**21**): 10 mg Zuckersirup wurden mit 12 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin (s. unter 3.1.2.) umgesetzt. Das rohe krist. Hydrazon vom Smp. 130–133° ergab aus Alk-Ä Blättchen vom Smp. 132–134°. Die Mischprobe mit dem oben beschriebenen Canarose-2,4-dinitrophenylhydrazon (Smp. 132–134°) schmolz bei 131–135° und gab im DC [An-Chf-(2:1)] nur *einen* Fleck.

4.6. *Monosid l = Gitoxigenin-monodigitoxosid* (= *Gitosid* [29] *oder Gitorosid* [29]) (**59**). Das Monosid l vom Smp. 206–210° ergab aus An-Ä Kristallkörner vom Smp. 209–214°; $[\alpha]_D^{23} = +8{,}8° \pm 2°$ bzw. $+7{,}4° \pm 2°$ (Alk bzw. Me). Die Mischprobe mit authentischem Gitoxigenin-monodigitoxosid[18]) (Smp. 209–212°) schmolz bei 205–210° und gab im DC [E-Me-(99:1)] nur *einen* Fleck, der im UV.-Licht blau fluoreszierte. – Die *Acetylverbindung* **60** wurde aus einem nicht ganz einheitlichen Präparat hergestellt und durch Chromatographie an SiO_2 gereinigt. Aus Me-W-Pe Blättchen vom Smp. 188–193°; $[\alpha]_D^{23} = -0{,}8° \pm 2°$ (Chf). Die Mischprobe mit der aus authentischem Gitorosid[18]) hergestellten Acetylverbindung (Smp. 185–192°) schmolz bei 187–195° und gab im DC [Chf-Me-(97:3)] einen einzigen Fleck. – Die *saure Hydrolyse* im Mikromaßstab gab *Gitoxigenin* sowie *Digitoxose* (beide im DC nachgewiesen).

4.7. *Monosid m = Gitoxigenin-digitalosid* (= *Strospesid*) (**57**). Smp. 247–252° (Sintern ab 243°), $[\alpha]_D^{22} = +16{,}3° \pm 2°$ (Me). Die Mischprobe mit authentischem Strospesid [13]) [Smp. 248–253° (Sintern ab 243°)] schmolz bei 239–247° und gab im DC [E-Me-(99:1) und Chf-Me-(9:1)] nur *einen* Fleck, der im UV.-Licht blau fluoreszierte. – Die *Acetylverbindung* **58** gab aus An-Ä zu Rosetten vereinigte Nädelchen vom Smp. 226–229°, nach dem Umlösen Smp. 226–230°; $[\alpha]_D^{23} = -4{,}0° \pm 2°$ (Chf). Die Mischprobe mit authentischer Acetylverbindung des Strospesids[13]) (Smp. 229–231°) schmolz bei 227–213° und gab im DC (E) nur *einen* Fleck.

5. Charakterisierung und chemische Untersuchung der Kedde-negativen Substanzen des Monosidgemisches

5.1. *Substanz «HF1»*. Aus Me-An-Ä feine Nädelchen vom Smp. 189–190°; $[\alpha]_D^{23} = -70{,}7° \pm 2°$ (Chf). Nach DC [Chf-Me-(99:1), -(24:1), Bz-Alk-(9:1) und Ä-Pn-(55:45)] und $AgNO_3$-DC [Bz-Alk-(9:1) und Ä-Pn-(55:45)] einheitlich. Xanthydrol-Reaktion negativ. Bei der Gas-Chromatographie (1 m × 0,7 cm; 3% SE 30 auf Chromport XXX/60–80 mesh) keine Auftrennung. Im UV. keine selektive Absorption bis 215 nm. – IR.-Spektrum (in Chf): 2,76 μ und 2,9 μ (breit) (HO-Banden); keine CO-Banden. Summenformel (nach MS) $C_{27}H_{44}O_3$ (416). – *Acetylverbindung:* 23 mg «HF1» wurden in 1,0 ml Py und 0,7 ml Ac_2O 48 Std. bei 37° stehengelassen. Das rohe Acetylierungsprodukt (26 mg) gab im DC [Ä-Pn-(1:9)] 2 Flecke, wobei derjenige mit kleinerem Rf-Wert stärker war. Nachacetylierung bei 80° während $1^1/_2$ Std. gab keine Änderung. Aus Me flache Nadeln vom Smp. 148–165°. Eine Aufteilung durch fraktionierte Kristallisation war nicht möglich.

Acetylverbindungen Ac-HF1a und Ac-HF1b. 23 mg rohe Acetylverbindung aus «HF1» wurden in Pn-Ä-(95:5) gelöst und an 6 g SiO_2 chromatographiert. Fr. zu 10 ml. Die Fr. 1–9 wurden

verworfen, die Fr. 10–14 gaben 6 mg *Ac-HF1a:* aus Me 3,5 mg flache Nadeln vom Smp. 189–200°; nach DC [Ä-Pn-(95:5) 2mal entwickelt] einheitlich. Die Fr. 15–16 gaben 2 mg Gemisch, die Fr. 17–21 15 mg Substanz *Ac-HF1b:* aus Me flache Nadeln vom Smp. 155–163°; nach DC einheitlich.

5.2. *Substanz «HF2»* gab im DC [Ä-Me-(49:1)] 2 deutlich voneinander abgesetzte Flecke, wobei der mit grösserem Rf-Wert braun gefärbt (= HF2a) (**61**) und der mit kleinerem Rf-Wert rot gefärbt war (= HF2b) (**63**).

Auftrennung von «HF2» in die Substanzen HF2a und HF2b: 64 mg «HF2» wurden in Chf-Me gelöst, mit wenig SiO_2 verrieben, im Vakuum getrocknet und auf eine mit Ä-Pn-(2:1) bereitete Säule von 30 g SiO_2 gegeben; Fr. zu 50 ml. Die Fr. 1–10 wurden verworfen, die Fr. 11–19 gaben 15 mg HF2a, die Fr. 20–24 enthielten Spuren Gemische, die Fr. 25–30 (mit reinem Ä) gaben 42 mg HF2b. – *HF2a* (**61**) kristallisierte aus Chf-Me-Ä in kleinen Nädelchen, Smp. 190–210°; $[\alpha]_D^{23} = +12{,}3° \pm 2°$ (Me). Nach DC [Ä-Me-(49:1)] einheitlich. Xanthydrol-Reaktion negativ. Nach MS, MG = 332 ($C_{21}H_{32}O_3$). – *HF2b* (**63**) gab aus Chf-Me-Ä kleine Prismen vom Smp. 223–243° (Zers.); $[\alpha]_D^{21} = +57{,}3° \pm 2°$ (Py). Nach DC [Ä-Me-(49:1)] einheitlich. Xanthydrol-Reaktion negativ. Nach MS: MG = 346 ($C_{21}H_{30}O_4$).

5.2.1. *Acetylverbindung von «HF2» und chromatographische Auftrennung in Ac-HF2a* (**62**) *und Ac-HF2b* (**64**). 36 mg «HF2» gaben 40 mg rohe Acetylverbindung. Diese wurde in etwas Chf gelöst, mit wenig SiO_2 verrieben, dieses im Vakuum getrocknet und auf eine mit Ä-Pn-(1:1) bereitete Säule von 2,5 g SiO_2 gegeben; Fr. zu 5 ml. Die Fr. 1–2 gaben 11 mg rohes *Ac-HF2a* (**62**) in Prismen vom Smp. 173–193°[27]; nach DC [Ä-Pn-(1:1)] einheitlich. IR.-Spektrum (in CH_2Cl_2): 2,85 μ (HO-Bande), 5,80 μ und 5,92 μ (Carbonylbanden). PR.-Spektrum siehe Fig. 2. MS gibt das MG 374 ($C_{23}H_{34}O_4$). – Die Fr. 3–5 gaben Spuren Gemisch. Die Fr. 6–13 enthielten 24 mg *Ac-HF2b* (**64**) vom Smp. 160–205°, nach dem Umlösen aus Me-Ä Blättchen vom Smp. 206–211°; $[\alpha]_D^{20} = +57° \pm 2°$ (Me). Die Mischprobe mit authentischem **64**[22]) (Smp. 206–210°) schmolz bei 206–210° und gab im DC [Ä-Pn-(1:1); Ä-Pn-(9:1); Chf-Me-(99:1)] nur *einen* Fleck. IR.-Spektrum (in CH_2Cl_2): 3,04 μ (HO-Bande), 5,72 μ, 5,79 μ und 5,91 μ (Carbonylbanden). PR.-Spektrum siehe Fig. 3. Nach MS: MG = 388 ($C_{23}H_{32}O_5$).

5.3. *Substanz HF3* (= *γ-Digiprogenin*) (**65**). Umkristallisieren aus Chf-Me-Ä gab prismat. Nadeln vom Smp. 244–249° (Sintern ab 240°); $[\alpha]_D^{22} = -79{,}8° \pm 2°$ (Py). Misch-Smp. mit authentischem γ-Digiprogenin (Smp. 245–253°, Sintern ab 242°): 247–253° (Sintern ab 241°). IR.-Spektrum (Nujol): 2,86 μ und 3,04 μ (HO-Banden); 5,70, 5,84 und 5,91 μ (Carbonylbanden). MS gab das MG 360 ($C_{21}H_{28}O_5$). – *Die Acetylverbindung* **66** gab aus An-Ä-Pe kleine Nädelchen vom Smp. 223–238°, die nach DC [Chf-Me-(49:1)] nicht ganz einheitlich waren.

5.4. *Substanz HF4* (**67**). Umkristallisation aus An-Ä gab Nädelchen vom Smp. 199–204°; $[\alpha]_D^{25} = 0° \pm 7°$ (Py). Nach DC [Chf-Me-(9:1)] einheitlich. Xanthydrolprobe positiv. Nach MS: MG = 476 ($C_{27}H_{40}O_7$). Der nach *saurer Hydrolyse* im Mikromaßstab (wie bei 4.1. angegeben) erhaltene Geninanteil gab im DC [Chf-Me-(9:1) und Ä-Me-(49:1)] einen roten Fleck mit gleichem Rf-Wert wie HF2b (**63**). Die wässerige Phase enthielt nach DC [An-Chf-(2:1)] *Digitoxose*.

5.5. *Substanz HF5* (= *Purpnigenin*) (**68**): Aus Me zu Rosetten vereinigte lange Nadeln vom Smp. 236–248°, $[\alpha]_D^{22} = +26{,}2° \pm 2°$ (Me). Nach DC [Chf-Me-(95:5)] einheitlich. Die Mischprobe mit authentischem Purpnigenin[22]) (Smp. 239–247°) schmolz bei 237–245° und gab im DC [Chf-Me-(19:1) und Chf-E-Me-(10:5:1)] nur *einen* Fleck. IR.-Spektrum (in Nujol): 2,86, 2,90, 2,95 μ (HO-Banden); 5,59 μ (Carbonylbande). Nach MS betrug das MG 348 ($C_{21}H_{32}O_4$). – Die *Acetylverbindung* **69** gab aus Ä-Pe lange dünne Nadeln vom Smp. 125–129°. Umlösen, erst aus Me-W, dann aus Ä-Pe, gab Blättchen vom Doppel-Smp. 127–130°/139–141°; $[\alpha]_D^{22} = +13{,}4° \pm 2°$ (Chf). Nach DC [Chf-Me-(99:1)] einheitlich. UV.-Spektrum: λ_{max}: 280 nm ($\log \varepsilon = 1{,}78$) in Alk. PR.-Spektrum siehe Fig. 4.

SUMMARY

The isolation, characterisation and chemical investigation of the cardiac glycosides of the dried leaves of *Isoplexis isabelliana* (Webb) Masf. are described. 7 glucosides (B, D, E, J (monoside), K, M, and l (monoside) could be obtained in homogenous form, 3 others were mixtures ("A" = $A_1 + A_2$, "C" = $C_1 + C_2$, and "G" = G + K). The substances B (gluco-evatromonoside), D (cheiroside A), E (digitoxigenin-gluco-

[27]) Dieses Präparat ging leider verloren und konnte deshalb nicht nochmals umkristallisiert werden.

sido-6-deoxyglucoside), J (digitoxigenin glucoside), and M (*digitalinum verum*) could be identified with known substances. The new glycosides are derived from 3 genins: digitoxigenin, uzarigenin, and xysmalogenin, which are directly bound to one of the following sugars: 6-deoxyglucose, 2-O-acetyl-6-deoxy-D-glucose, 2,6-dideoxy-D-arabinohexose (= D-canarose), and 2,6-dideoxy-D-ribohexose (= D-digitoxose), terminated by a glucose unit. – Canarobiose, a new crystalline disaccharide of D-glucose and D-canarose, has also been obtained. – Apart from these cardiac glycosides 3 C_{21}-steroids have been isolated (in addition to the 2 known genins γ-digiprogenin and purpnigenin), and their structures elucidated. The presence of 2 sapogenins has been detected.

LITERATURVERZEICHNIS

[1] R. Rees, C. R. Gavilanes, W. Meier, A. Fürst & K. Meyer, Helv. *44*, 1607 (1961).
[2] S. K. Pavanaram, P. Hofer, H. Linde & K. Meyer, Helv. *46*, 1377 (1963).
[3] K. Werner, Wissensch. Z. Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, Mathem.-Naturw. Reihe *13*, 453 (1964).
[4] J. L. Bretón & A. G. González, Chemistry & Ind. *1960*, 205.
[5] A. Stoll, E. Angliker, F. Barfuss, W. Kussmaul & J. Renz, Helv. *34*, 1460 (1951).
[6] D. L. Kedde, Pharmac. Weekbl. *82*, 741 (1947).
[7] P. Bellet, Ann. pharmaceut. franç. *8*, 471 (1950); M. Pesez, *ibid.* *10*, 104 (1952).
[8] C. B. Barrett, M. S. J. Dallas & F. B. Padley, Chemistry & Ind. *1962*, 1050; L. J. Morris, *ibid.* *1962*, 1238; B. de Vries & G. Jurriens, Fette, Seifen, Anstrichmittel *65*, 725 (1963); Chem. Abstr. *60*, 3205 (1964); J. W. Copius-Peereboom & H. W. Beekes, J. Chromatogr. *17*, 99 (1965); weitere Lit. daselbst.
[9] B. de Vries, J. Amer. Oil chem. Soc. *40*, 184 (1963); *41*, 403 (1964); Chem. Abstr. *59*, 1853 (1963); *61*, 3316 (1964).
[10] P. Studer, S. K. Pavanaram, C. R. Gavilanes, H. Linde & K. Meyer, Helv. *46*, 23 (1963).
[11] W. Zorbach & J. P. Ciandelli, J. org. Chemistry *30*, 451 (1965).
[12] O. Westphal, H. Feier, O. Lüderitz & I. Fromme, Biochem. Z. *326*, 139 (1954); R. Repič & Ch. Tamm, Helv. *40*, 639 (1957).
[13] S. Rangaswami & T. Reichstein, Helv. *32*, 939 (1949).
[14] R. Tschesche, Z. physiol. Chem. *222*, 50 (1933); R. Tschesche & K. Bohle, Ber. deutsch. chem. Ges. *68*, 2252 (1935); R. Tschesche & K.-H. Brathge, *ibid.* *85*, 1042 (1952).
[15] A. Windaus & E. Haack, Ber. deutsch. chem. Ges. *63*, 1377 (1930); R. Tschesche & K.-H. Brathge, *ibid.* *85*, 1042 (1952).
[16] J. Polonia, H. Kuritzkes, Herb. Jäger & T. Reichstein, Helv. *42*, 1437 (1959); frühere Literatur siehe daselbst.
[17] R. Tschesche, S. Wirtz & G. Snatzke, Chem. Ber. *88*, 1619 (1955); F. Kaiser, E. Haack & H. Spingler, Liebigs Ann. Chem. *603*, 75 (1957).
[18] F. Kaiser, E. Haack & H. Spingler, Liebigs Ann. Chem. *678*, 137 (1964).
[19] A. Windaus & G. Stein, Ber. deutsch. chem. Ges. *61*, 2436 (1928).
[20] R. Tscheche, B. Niyomporn & H. Machleidt, Chem. Ber. *92*, 2258 (1959); H. Lichti & A. von Wartburg, Helv. *44*, 238 (1961).
[21] H. R. Bolliger & P. Ulrich, Helv. *35*, 93 (1952).
[22] A. Stoll & J. Renz, Enzymologia *7*, 362 (1939).
[23] J. A. Moore, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. *37*, 755 (1954).
[24] E. Votoček & F. Valentin, Coll. czechoslov. chem. Commun. *2*, 36 (1930).
[25] F. Kaiser, E. Haack & H. Spingler, Liebigs Ann. Chem. *688*, 216 (1965).
[26] F. Kaiser & W. Voigtländer, Naturwiss. *52*, 108 (1965); R. C. Elderfield, F. C. Uhle & J. Fried, J. Amer. chem. Soc. *69*, 2235 (1947).
[27] W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. *36*, 434 (1953).

[28] W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. *35*, 434 (1952); A. Hunger & T. Reichstein, Helv. *33*, 76, 1993 (1950).
[29] J. E. Murphy, J. Amer. pharmaceut. Assoc. (Sci. Ed.) *46*, 170 (1957); D. Satoh, T. Wada & T. Okumura, J. pharmaceut. Soc. Japan *76*, 1334 (1956); F. Kaiser, E. Haack & H. Spingler, Liebigs Ann. Chem. *603*, 75 (1957).
[30] C. Juslén, W. Wehrli & T. Reichstein, Helv. *46*, 117 (1963), bes. Fussn. 21.
[31] O. Schindler & T. Reichstein, Helv. *35*, 730 (1952); H. R. Bolliger & T. Reichstein, Helv. *36*, 302 (1953).
[32] U. Eppenberger, H. Kaufmann, W. Stöcklin & T. Reichstein, Helv. *49*, 1492 (1966).
[33] A. Stoll & W. Kreis, Helv. *16*, 1049 (1933).
[34] D. Satoh, H. Ishii, Y. Oyama, T. Wada & T. Okumura, Chem. pharmaceut. Bull. (Japan) *4*, 284 (1956); A. Okano, *ibid. 5*, 257 (1957); F. Kaiser, Experientia *21*, 575 (1965).
[35] W. Klyne, Proc. biochem. Soc., Biochem. J. *47*, XLI (1950).
[36] H. Budzikiewicz, C. Djerassi, D. H. Williams, «Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry», Vol. II, Holden-Day, San Francisco 1964, S. 110 ff.
[37] M. S. Bhacca & D. H. Williams in: «Application of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry», Holden-Day, San Francisco 1964, S. 87–88.
[38] Siehe [37], S. 19 ff.
[39] D. Satoh, S. Kobayashi & M. Horie, Chem. pharmaceut. Bull. (Japan) *14*, 552 (1966); D. Satoh & S. Kobayashi, *ibid. 15*, 248 (1967).
[40] D. Satoh, Chem. pharmaceut. Bull. (Japan) *8*, 270 (1960).
[41] D. Satoh, H. Ishii, Y. Oyama & T. Okumura, Chem. pharmaceut. Bull. (Japan) *10*, 43 (1962).
[42] D. Satoh, H. Ishii, Y. Oyama & T. Okumura, J. pharmaceut. Soc. Japan *75*, 1573 (1955); D. Satoh, H. Ishii & Y Oyama, Chem. pharmaceut. Bull. (Japan) *8*, 657 (1960); H. Ishii, *ibid. 9*, 411 (1961); *10*, 351, 354 (1962); D. Satoh, Annu. Rep. Shionogi Res. Lab., Osaka (Japan), No. *14*, 14 (1964).
[43] A. Lardon & T. Reichstein, Helv. *45*, 943 (1962).
[44] Protonenresonanz-Spektrum unveröffentlicht.

Curriculum vitae

Am 23. April 1938 wurde ich, HELLMUT FREITAG, als Sohn des Diplomingenieurs Johann Freitag und seiner Ehefrau Änne, geb. Walter, in Ludwigshafen am Rhein geboren.

Nach Beendigung der Volksschule besuchte ich ab Herbst 1948 das Realgymnasium in München, ab Juni 1949 das Tulla-Realgymnasium in Mannheim, wo ich im März 1957 das Abitur bestand. Nach meiner zweijährigen Apothekerpraktikantenzeit in Mannheim legte ich das pharmazeutische Vorexamen in Karlsruhe ab. Anschliessend leistete ich meinen einjährigen Wehrdienst bei der Bundeswehr.

Im Frühjahr 1960 begann ich mit dem Pharmaziestudium in Basel, von wo ich nach 2 Semestern nach Würzburg überwechselte; dort schloss ich im April 1964 das Studium mit dem Pharmazeutischen Staatsexamen ab.

Im Mai 1964 begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Kuno Meyer am Pharmazeutischen Institut der Universität Basel mit der vorliegenden Dissertation. Im Verlaufe meines Studiums besuchte ich die Vorlesungen und Praktiken folgender Dozenten: C. H. Brieskorn, C. A. Grob, H. Dahn, Th. Dimmling, H. Erlenmeyer, S. Fallab, M. Geiger-Huber, H. Hein, P. Huber, B. Hügel, K. Meyer, W. Neumann, D. Riehl, R. Schiedermair, W. Simonis, Ch. Tamm, P. Tunmann, O. H. Volk und D. Wüstenfeld. – Allen diesen Dozenten danke ich für die gute Ausbildung, welche ich bei ihnen erhalten habe.